

INTERAKTIONEN VON G-STROPHANTHIN
MIT CALCIUM-IONEN UND VERAPAMIL

Siegmar Fischer

1978

Dissertations- und Fotodruck Anneliese SCHUBERT
8 München 5 • Corneliusstraße 21 • Tel.: 268177

Aus der Medizinischen Klinik I der Universität München

Direktor: Prof. Dr. G. Riecker

INTERAKTIONEN VON G-STROPHANTHIN MIT CALCIUM-IONEN
UND VERAPAMIL

Elektrophysiologische Untersuchungen an isolierten
Purkinje Fäden des Schafherzens

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Siegmar Fischer

aus

München

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. H.-D. Bolte

Mitberichterstatter: Prof. Dr. G. Riecker

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 30.5.1978



1. Einleitung

2. Inhalt

2.1. Vorwort

2.2. Inhaltsverzeichnis

2.3. In Dankbarkeit meinen Eltern gewidmet

2.4. Vorwort des Verfassers

2.5. Vorwort des Herausgebers

2.6. Vorwort des Verlegers

2.7. Vorwort des Verfassers (Fortsetzung)

2.8. Vorwort des Herausgebers (Fortsetzung)

2.9. Vorwort des Verlegers (Fortsetzung)

2.10. Vorwort des Verfassers (Fortsetzung)

2.11. Vorwort des Herausgebers (Fortsetzung)

2.12. Vorwort des Verlegers (Fortsetzung)

2.13. Vorwort des Verfassers (Fortsetzung)

2.14. Vorwort des Herausgebers (Fortsetzung)

2.15. Vorwort des Verlegers (Fortsetzung)

2.16. Vorwort des Verfassers (Fortsetzung)

2.17. Vorwort des Herausgebers (Fortsetzung)

2.18. Vorwort des Verlegers (Fortsetzung)

2.19. Vorwort des Verfassers (Fortsetzung)

2.20. Vorwort des Herausgebers (Fortsetzung)

3. Bibliographie

3.1. Bibliographie (Fortsetzung)

3.2. Bibliographie (Fortsetzung)

3.3. Bibliographie (Fortsetzung)

3.4. Bibliographie (Fortsetzung)

3.5. Bibliographie (Fortsetzung)

3.6. Bibliographie (Fortsetzung)

3.7. Bibliographie (Fortsetzung)

3.8. Bibliographie (Fortsetzung)

3.9. Bibliographie (Fortsetzung)

3.10. Bibliographie (Fortsetzung)

3.11. Bibliographie (Fortsetzung)

3.12. Bibliographie (Fortsetzung)

INHALTSVERZEICHNIS

Seite:

1. Einleitung	1
2. Methodik	6
2.1. Versuchsanordnung	6
2.1.1. Elektroden	6
2.1.2. Spannungsfolger, Differenzverstärker	6
2.1.3. Abgleich und Kontrolle der Meßelektroden	8
2.1.4. Bad-Klemm-Verstärker	8
2.1.5. Reizung, Triggerung	9
2.1.6. Bestimmung der effektiven Refraktärperiode	9
2.1.7. Darstellung und Dokumentation	9
2.1.8. Versorgung des Präparates, Meßkammer	10
2.2. Lösungen und Pharmaka	10
2.3. Messung von Temperatur, pO_2 , pH, Na^+ -, K^+ - und Ca^{++} -Konzentration	11
2.4. Präparation	12
2.5. Allgemeiner Versuchsablauf	14
2.6. Auswertung, Definition gemessener Parameter	17
2.7. Statistik	19
3. Calcium-Ionen und g-Strophanthin	21
3.1. Problematik niedriger Calcium-Ionen- Konzentration	21
3.2. Kontrollkollektive (ohne g-Strophanthin)	22
3.3. Versuchskollektive (mit g-Strophanthin)	28
3.3.1. Maximales diastolisches Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP)	32
3.3.2. Take off Potential (TOP), Anstiegsgeschwin- digkeit (V_{max}), Anstiegsamplitude (AP_{Na}), Overshoot	32
3.3.3. Aktionspotentialdauer (APD) und effektive Refraktärperiode (ERP)	35

3.3.4. Maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD), diastolische Amplitude (DA), diastolische Oszillationen (TD)	38
3.3.5. Extrasystolie und Spontanaktivität	42
3.4. Diskussion	44
4. Verapamil und g-Strophanthin	61
4.1. Kontrollkollektive (ohne g-Strophanthin)	61
4.2. Versuchskollektive (mit g-Strophanthin)	67
4.2.1. Maximales diastolisches Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP)	67
4.2.2. Take off Potential (TOP), Anstiegsgeschwindigkeit ($V_{\max}$), Anstiegsamplitude (AP_{Na}), Overshoot	69
4.2.3. Aktionspotentialdauer (APD) und effektive Refraktärperiode (ERP)	69
4.2.4. Maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD), diastolische Amplitude (DA), diastolische Oszillationen (TD)	74
4.2.5. Extrasystolie und Spontanaktivität	74
4.3. Wirkungen des Verapamils (ohne g-Stroph.)	76
4.4. Diskussion	77
5. Zusammenfassung	82
6. Tabellen	87
7. Literaturverzeichnis	

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

(Definition s. 2.6.)

AP	Aktionspotentialamplitude
AP _{Na}	Anstiegsamplitude des Aktionspotentials
APD	Aktionspotentialdauer
Ca	Calcium-Gesamt-Konzentration
Ca ⁺⁺	Calcium-Ionen-Konzentration
DA	diastolische Amplitude
DD	maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit
ERP	effektive Refraktärperiode
MDP	maximales diastolisches Potential
OS	Overshoot
TD	diastolische Oszillation (transient depolarisation)
TOP	Take off Potential
V _{max}	Anstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials



Digitized by the Internet Archive
in 2026

1. EINLEITUNG

Zahlreiche klinische sowie tierexperimentelle Untersuchungen lassen eine Verstärkung der Wirkung herzwirksamer Glykoside durch erhöhte extrazelluläre Calciumkonzentrationen als gesichert gelten (12, 18, 30, 45, 69, 72, 78, 86). Dies bezieht sich sowohl auf erwünschte, positiv inotrope Effekte als auch auf toxische, Rhythmusstörungen verursachende Eigenschaften.

Hinsichtlich der Inotropie bewirkt Calcium ähnlich wie herzwirksame Glykoside eine Zunahme der Kontraktionskraft und der Kontraktionsgeschwindigkeit (69). Dieser Synergismus von Calcium und Digitalis hinsichtlich der positiv inotropen Wirkung war bis vor etwa vierzig Jahren Anlaß für Empfehlungen einer kombinierten Calcium-Digitalis-Therapie (12).

Eine solche Kombination gilt jedoch seit der Beschreibung zweier Todesfälle als sehr gefährlich und obsolet: Nach der intravenösen Applikation von 10 cm³ 10%iger Calciumgluconatlösung waren zwei mit herzwirksamen Glykosiden (Digalen) behandelte Patienten verstorben (16).

Derartige Zwischenfälle werden auf eine Verstärkung der toxischen, d.h. Rhythmusstörungen bis hin zum Herzstillstand auslösenden Eigenschaften herzwirksamer Glykoside durch Calcium zurückgeführt.

Aus Versuchen am isolierten Froschherzen ist schon lange bekannt, daß herzwirksame Glykoside mit zunehmender extrazellulärer Calciumkonzentration eher zum Herzstillstand führen (71, 113). Am isolierten Herzmuskel verschiedener Warmblüter zeigten ähnliche Untersuchungen **analoge** Ergebnisse, nämlich einen vorzeitigen Herzstillstand (110) bzw. eine stärkere Abnahme der Kontraktionsamplitude (als Maß der Toxizität) bei Digitalisperfusion mit erhöhter Calciumkonzentration (8, 45).

Auch Versuche an narkotisierten Tieren führten zu analogen Ergebnissen:

So ergaben sich indirekte Hinweise für einen Calcium-Digitalis-Synergismus aus Experimenten, bei denen durch

herzwirksame Glykoside induzierte Rhythmusstörungen bzw. EKG-Veränderungen mit Hilfe von Calcium-bindenden Chelatbildnern (EDTA) deutlich gebessert werden konnten (Überführung in Sinusrhythmus) (78, 101).

Andere Untersuchungen in vivo mit Infusion von Calciumlösungen und herzwirksamen Glykosiden deuteten gleichfalls darauf hin, daß bei erhöhter Calciumkonzentration im Serum Rhythmusstörungen bzw. Tod durch Herzstillstand früher und gehäuft auftreten (8, 16, 39, 69, 72).

Ein Teil dieser Arbeiten schränkt aber das Konzept eines generellen Calcium-Digitalis-Synergismus ein.

So wurde im Tierexperiment gefunden, daß Calciumapplikation bei vorbestehender Digitalisierung zu Rhythmusstörungen und Tod führt, Calciumgabe vor der Digitalisierung jedoch keinen derartigen Effekt zeigt (16). Andere Autoren konnten auch nach vorausgegangener intravenöser Injektion von Calciumchlorid eine verstärkte toxische Wirkung von Digitalis nachweisen, fanden aber derartige Effekte nur bei einem Teil der Versuchstiere, wenn sie den Calciumspiegel durch intramuskuläre Verabreichung von Parathormon auf Werte zwischen 17 und 25,6 mg% (8-13 mval/l) erhöhten (39). Einige Tierexperimente wurden unter Beachtung von pH und Proteingehalt des Serums durchgeführt, um die biologisch wirksame Calcium-Ionen-Konzentration konstant zu halten. Dabei konnte bei Verabreichung von 90% der toxischen g-Strophanthindosis sogar durch extreme Erhöhung der Calciumkonzentration im Serum auf 46,2 mg% (23 mval/l) keine verstärkte Toxizität (hierbei definiert als ventrikuläre Tachykardie) nachgewiesen werden.

Dies gelang erst nach der Applikation von mehr als 95% der toxischen g-Strophanthindosis (72).

Eine spätere Untersuchung konnte ebenfalls erst bei sehr hohen Calciumwerten von über 15 mval/l eine Abnahme der zur Auslösung ventrikulärer Tachykardien nötigen Dosis von Acetylstrophanthidin nachweisen (82).

In verschiedenen Experimenten wurde in vivo an Mäusen und Meerschweinchen gezeigt, daß Calcium die Toxizität (gemessen als LD₁₀₀) verschiedener herzwirksamer Glykoside nicht

verstärkt, sondern sogar eher abschwächt (36, 62, 79). Eine entsprechende Arbeit am isolierten Papillarmuskel führte zu analogen Ergebnissen (1). Bei diesen Untersuchungen (1, 36, 62, 79) waren die Resultate jedoch von der Art des Glykosids (g-Strophanthin, Digoxin, Digitoxin u.a.) abhängig. Für g-Strophanthin (Ouabain) - welches wir für die vorliegenden Untersuchungen verwendet haben - wurde in einer dieser Arbeiten (1) eine Steigerung der Toxizität durch erhöhtes extrazelluläres Calcium beschrieben, während in zwei weiteren (36, 79) kein Effekt beobachtet wurde.

Eine generelle Verstärkung der Toxizität von herzwirksamen Glykosiden durch Calcium kann also nicht als gesichert gelten.

Elektrophysiologische Messungen an Aktionspotentialen mit der Fragestellung einer Interaktion von Calcium und Digitalis sind uns nur am Muskelgewebe (68) sowie über Spontanktivität und diastolische Depolarisation am Sinusknoten des Kaninchens (104) bekannt, wobei eine verstärkte Depolarisation und eine verstärkte Abnahme des Overshoots sowie der Aktionspotentialdauer beschrieben wurden, also Veränderungen im Sinne eines Synergismus von Digitalis und Calcium.

Insbesondere sind keine entsprechenden systematischen Untersuchungen am Aktionspotential von Purkinjefäden mitgeteilt. Es ist uns nur ein einziger Bericht über die Calciumabhängigkeit von Acetylstrophanthidin induzierten diastolischen Oszillationen (transient depolarisations) bekannt. Dabei zeigte sich eine Zunahme der aufgetretenen diastolischen Oszillationen mit Erhöhung der Calciumkonzentration im Perfusionsmedium (34).

Eine systematische, quantitative Untersuchung der Calcium-Digitalis-Wechselwirkung am Purkinje-Faden mittels mehrerer elektrophysiologischer Aktionspotentialparameter ist unserer Ansicht nach von Wichtigkeit, da gerade das Purkinje System mit seiner gegenüber der Muskulatur stark erhöhten Empfindlichkeit für herzwirksame Glykoside (106, 108) bei der

Entstehung von Arrhythmien ventrikulären Ursprungs von Bedeutung zu sein scheint (18, 51).

In der vorliegenden Arbeit soll versucht werden, diese Lücke zu schließen.

Da eine Änderung der Calciumkonzentration je nachdem, ob sie vor oder nach der Applikation herzwirksamer Glykoside erfolgt, unterschiedliche Effekte haben kann (s.o. 16), und heute die intravenöse Verabreichung von Calcium bei bereits bestehender Digitalisierung vermieden wird, verändern wir den Calciumgehalt unserer Perfusionslösungen v o r der Gabe von g-Strophanthin, um so nach längerer Äquilibrationszeit hypo- bzw. hypercalcämieähnliche Bedingungen zu erhalten.

Für die Calciumwirkung ist der ionisierte, biologisch wirksame Anteil des Calciums entscheidend (72, 74, 87). Deshalb wird in unseren Versuchen neben der Calciumgesamtkonzentration und dem pH auch die effektive Calcium-Ionen-Konzentration gemessen.

Für die Untersuchung der Interaktionen von g-Strophanthin und Calciumionen ist es von Interesse, wie die Wirkung des g-Strophanthins durch Calcium-antagonistische Substanzen modifiziert wird. Als charakteristischen Vertreter dieser Stoffgruppe verwendeten wir Verapamil (Iproveratril, Isoptin[®]), dessen Calcium-blockierende Eigenschaften schon ausführlich untersucht wurden (10, 11, 20, 63, 64).

Ursprünglich als Coronardilatator eingeführt, zeigte sich schon bald die ausgeprägte antiarrhythmische Wirkung von Verapamil, welches sich keiner der klassischen Antiarrhythmikagruppen eindeutig zuordnen läßt (98). Die antiarrhythmischen Eigenschaften des Verapamils werden, ebenso wie die negative Inotropie dieser Substanz, hauptsächlich auf Calcium-antagonistische Effekte in den Kompartimenten der Zelle sowie insbesondere an der äußeren Zellmembran zurückgeführt. Man nimmt an, daß Verapamil und ähnlich wirkende Substanzen (z.B. D 600) den langsamen Calcium-Einwärtsstrom hemmen (20, 63, 64, 91).

Es gibt jedoch auch Anhaltspunkte dafür, daß Verapamil direkt oder indirekt den schnellen Natriumkanal blockiert, da es als Lokalanästhetikum am Froschnerv stärker als Procain wirkt (98) und am Tintenfischaxon D 600 (ein Methoxy - Derivat des Verapamils) den schnellen Natrium-Einwärtsstrom hemmt (7).

Es konnte ferner am Papillarmuskel der Katze gezeigt werden, daß sich die optischen Isomere von D 600 und Verapamil hinsichtlich ihrer Wirkung unterscheiden: Die (-) Isomere scheinen hauptsächlich für die Calciumblockade und negative Inotropie, die (+) Isomere vor allem für die Hemmung des schnellen Natriumkanals verantwortlich zu sein (10, 11).

Nach vorliegenden Experimenten in vivo reduziert eine Vorbehandlung mit Verapamil das Auftreten von Kammerflimmern während einer Ouabain-Infusion, vermindert jedoch gleichzeitig durch einen additiv toxischen Effekt die tödliche g-Strophanthindosis (98).

Elektrophysiologische Untersuchungen über die Interaktionen von Verapamil und Ouabain mit intrazellulärer Ableitung von Aktionspotentialen berücksichtigten bisher nur die Veränderungen der Diastole. Dabei wurde durch Zugabe von Verapamil bei bereits bestehender Intoxikation eine Abschwächung der g-Strophanthin-Wirkung erreicht (89).

Unsere Untersuchungen über die Interaktionen von g-Strophanthin mit Calcium-Ionen und Verapamil (als (+) Racemat) sollen dazu beitragen, am isolierten Purkinje-Faden folgende Fragen zu beantworten:

- 1.) Welche Veränderungen elektrophysiologischer Aktionspotentialparameter bewirkt g-Strophanthin (Ouabain) in Abhängigkeit von der Expositionszeit?
- 2.) Welchen Einfluß haben verschiedene vorbestehende Calcium-Ionen-Konzentrationen auf diese Veränderungen?
- 3.) Wie wirkt sich Verapamil auf abgeleitete Aktionspotentiale aus?
- 4.) Welche Interaktionen bestehen zwischen Verapamil und g-Strophanthin?
- 5.) Gibt es Unterschiede zwischen den Wirkungen niedriger Calcium-Ionen-Konzentration und denen des Verapamils?

2. METHODIK

2.1. Versuchsanordnung

Abb.1 zeigt ein Schema der Versuchsanordnung: Von dem durch einen geschlossenen Kreislauf mit oxygenierter Ringerlösung versorgten Purkinje Faden werden mit Hilfe von Mikroglaselektroden nach Ling Gerard (70) intrazellulär Potentiale abgeleitet, verstärkt und auf einem Oszilloskop dargestellt. Es besteht die Möglichkeit, gleichzeitig in zwei Zellen Potentiale zu messen.

2.1.1. Elektroden

Die verwendeten Mikroelektroden haben einen Widerstand von 10-30 MO bei einem Spitzendurchmesser von $< 1 \mu\text{m}$ und eine Spitzenlänge von 10-15 mm. Sie werden an einem Vertikalziehgerät aus Pyrexglas von 1,7 mm Außen- und 0,85 mm Innendurchmesser hergestellt.

Nach dem Ziehvorgang werden die Glaselektroden mit den Spitzen nach unten in ein mit Methanol gefülltes, evakuierbares Glasgefäß gehängt. Eine Wasserstrahlpumpe erniedrigt den Druck in diesem Behälter soweit, daß das Methanol bei Zimmertemperatur siedet.

Nach 15 Minuten werden die Elektroden in Aqua dest., nach weiteren 2-3 Stunden in 2,9 M KCl-Lösung gebracht, in der sie auch aufbewahrt werden. Erst nach 5 Tagen ist der elektrische Widerstand auf brauchbare Werte abgefallen.

In die 2,9 M KCl-Füllung der Mikroglaselektroden eintauchende Ag-AgCl-Elektroden verhindern eine Potentialentstehung an der Elektrolyt-Metall-Grenzfläche.

Direkt in die Ringerlösung der Meßkammer tauchende Ag-AgCl-Elektroden dienen auch als indifferente Bezugselektrode sowie als Ein- und Ausgang für den Bad-Klemm-Verstärker.

2.1.2. Spannungsfolger, Differenzverstärker

Die Spannungsfolger (Fa. Ehrler, Homburg/Saar) sind möglichst nahe an den ableitenden Elektroden angebracht, um eine

Störung durch elektrische Felder auszuschalten.

Die Folger verstärken um den Faktor 2. Der Eingangswiderstand beträgt $> 10^6 \Omega$, die Eingangskapazität 0,7 pF.

Die vorverstärkten Signale werden an einen Differenzverstärker (Fa. Ehrler) weitergeleitet. Dieser verstärkt die von der Indifferenz- und der MeBelektrode resultierende Differenzspannung um den Faktor 5.

Die Gesamtverstärkung beträgt somit 10x.

2.1.3. Abgleich und Kontrolle der MeBelektrode

An der Elektroden spitze entstehende Potentiale werden mit einem Potentiometer abgeglichen.

Die Eigenkapazität der MeBelektrode wird über eine Rückkopplung der Eingangsspannung auf die Elektrodenabschirmung über einen Kondensator von 1 pF kompensiert (Eingangskapazitätsneutralisation). Hierzu wird auf den Eingang des Spannungsfolgers über einen Widerstand von 100Ω ein 2 ms langer Rechteckimpuls gegeben und die Rückkopplungsspannung so reguliert, daß dieser wieder als Rechteck wiedergegeben wird.

Die Höhe dieses wiedergegebenen Impulses ist dem Widerstand der Mikroglaselektrode proportional.

Dieser Prüfpuls erlaubt eine permanente Kontrolle der Elektrode.

2.1.4. Bad-Klemm-Verstärker

Die Meßkammer wird erdfrei betrieben. Ein Bad-Klemm-Verstärker (Fa. Ehrler) hält das Potential in der Perfusionslösung konstant auf einem eingegebenen Wert, hier 0 mV. Als Ein- und Ausgang dieses Geräts dienen zwei in der Meßkammer angebrachte Ag-AgCl-Elektroden. Potentialänderungen der Ringerlösung (z.B. durch externe Reizung des Präparates) werden über den Eingang gemessen, und über den Ausgang wird mittels eines Korrekturstromes die geklemmte Spannung gehalten.

Ein diesem Korrekturstrom proportionales Potential wird über den zweiten Ausgang des Bad-Klemm-Verstärkers auf dem

Oszilloskop gezeigt. Diese Schaltung ermöglicht eine genaue Messung des Reizstromes.

2.1.5. Reizung, Triggerung

Als extrazelluläre Reizelektrode wird ein in Glas eingeschmolzener Platindraht von 0,1 mm Durchmesser verwendet. Es wird gegen das geklemmte Potential des Bad-Klemm-Verstärkers gereizt und der Reizstrom gemessen (2.1.4.).

Zur Triggerung des Oszilloskops und zur Einstellung von Frequenz und Dauer der Reizimpulse dienen digital einstellbare elektronische Geräte der Fa.Hi-Med, England (Einschübe HG 101 B, HG 102 B, HG 103 B und HG 108 B).

Zur Einstellung der Amplitude des Reizimpulses werden zwei erdfrei arbeitende, akkumulatorbetriebene Isolatur-Einheiten HG 106 B verwendet.

Kathodische Reize von 2 ms Dauer werden mit einer Frequenz von 1 s^{-1} und gerade überschwelliger Stromstärke appliziert. Nur wenn der Reizimpuls mit dem Anstieg des Aktionspotentials interferiert, werden kürzere Impulslängen verwendet.

2.1.6. Bestimmung der effektiven Refraktärperiode (ERP)

Ausgehend von der Frequenz des regulären Reizes (S_1) von 1 s^{-1} wird mit zeitlicher Verzögerung ein noch sicher unter der ERP liegender zweiter Reiz (S_2) appliziert, dessen Stromstärke bei gleicher Impulsdauer genau $2 \times S_1$ beträgt. Das S_1 - S_2 -Intervall wird nun um jeweils 1 ms vergrößert und bei jedem 10. Aktionspotential appliziert, bis ein fortgeleitetes Aktionspotential durch S_2 ausgelöst wird.

2.1.7. Darstellung und Dokumentation

Es wird ein Zweistrahl-Oszilloskop 565 der Fa.Tektronix (Oregon, USA) verwendet. Zur Darstellung des Elektrodenprüfimpulses, der intrazellulären Potentiale und der Reizstromstärken wird der Einschub 3 A 74 benutzt. Der Aktionspotentialanstieg wird mit Hilfe des Einschubs 3 A 8 elektronisch differenziert (0,5 M Ω ; 10 pF).

Mit einer automatischen Registrierkamera (Zeiss PP 1021

Frequentophot) werden interessierende Potentiale vom Oszilloskop **abfotografiert** und später ausgewertet.

2.1.8. Versorgung des Präparates, Meßkammer

Die Ernährung des Purkinje Fadens erfolgt über einen geschlossenen Kreislauf (Abb.1): Aus einem gekühlten Vorratsbehälter wird mit Carbogen (95% O₂, 5% CO₂) gesättigte Ringerlösung von einer Schlauchpumpe (Fa.Desaga) über eine Heizstrecke in die Meßkammer gepumpt und von dort durch eine Kühlstrecke zurück zum Vorratsgefäß.

Vorratsgefäß und Kühlstrecke befinden sich in einer mit Eiswasser gefüllten Isolierwanne, welche an ein Kühlthermostat angeschlossen ist.

Die Meßkammer ist in einen Plexiglasblock gefräst, der wegen seiner Doppelwandigkeit eine Durchströmung mit temperiertem Wasser erlaubt und damit die Temperaturkonstanz von 36⁰C gewährleistet.

Die Kammer hat eine Länge von 25 mm bei einer Breite von 10 mm und einer Höhe von 8 mm. Ihr Boden ist mit schwarzem Kunststoff ausgelegt, um die hellen Purkinje Fäden mit Nadeln fixieren und kontrastreich sehen zu können.

Ein Überlaufsystem hält das Flüssigkeitsniveau konstant und ergibt im steady state ein Kammervolumen von 1,2 mm. Bei einer Pumpgeschwindigkeit von 6 ml/min wird somit der Kammerinhalt 5x pro Minute erneuert.

2.2. Lösungen und Pharmaka

Es werden modifizierte Krebs-Ringer-Lösungen mit unterschiedlichen Calciumkonzentrationen verwendet.

Die Standardlösung, welche für Transport, Präparation, Aufbewahrung und Versuche mit sogenannter "mittelhoher" Calcium-Ionen-Konzentration verwendet wird, hat folgende Zusammensetzung in mval/l:

Na ⁺	143	Cl ⁻	128,7
K ⁺	4,7	HCO ₃ ⁻	24
Ca ⁽⁺⁺⁾	4,5	H ₂ PO ₄ ⁻	1
Mg ⁺⁺	1,5		
Glucose	1 g/l		

Die Lösungen werden durch Einwaage chemisch reiner Salze in Aqua bidest. hergestellt.

Neben der Standardlösung mit einer Calcium-Gesamtkonzentration von 4,5 mval/l (mittelhohes Calcium) wird durch entsprechend geänderte Einwaage von Calciumchlorid eine Lösung mit 1,6 (niedriges Calcium) und eine mit 8,8 mval/l (hohes Calcium) hergestellt. Die sich daraus ergebenden geringfügigen Änderungen der Cl^- -Konzentration und der Osmolarität werden vernachlässigt.

Durch Lösen von "g-Strophenthin krist. reinst (Ouabain)" der Fa.Merck in Aqua bidest wird eine Ouabain-Stammlösung von 10^{-4} M hergestellt.

Durch Zugabe dieser Lösung in das Vorratsgefäß des Versorgungssystems werden am Purkinje Faden g-Strophanthin-Konzentrationen von $2,5 \times 10^{-7}$ M erzeugt.

Verapamil-HCl (Iproveratril) wird für entsprechende Versuche frisch aus Isoptin^R-Ampullen (Knoll A.G., Ludwigshafen) entnommen und ebenfalls in das Vorratsgefäß gegeben. Diese Ampullen enthalten nach Angaben der Fa.Knoll nur die Reinsubstanz in Aqua bidest. (2,5 mg/l). Die Versuche werden mit Verapamil-Konzentrationen von 1,25mg/l entsprechend $2,5 \times 10^{-6}$ M durchgeführt.

2.3. Messung von Temperatur, pO_2 , pH, Na^+ -, K^+ -, Ca^{++} -Konz.

Die Temperatur in der Meßkammer wird in jedem Versuch mit einem Sekundenthermometer ermittelt und konstant auf 36°C gehalten.

Mit Blutgasanalysatoren (geeicht für entsprechend hohe O_2 -Partialdrucke) wird der pO_2 in der Perfusionslösung gemessen. Die so ermittelten Werte liegen zwischen 500 und 600 mm Hg.

Bei den Versuchen wird der pH in der Meßkammer mit einer besonders für anaerobe Messungen geeigneten, temperierten pH-Mikrokapillar-Meßkette (Fa.Ingold) ermittelt. Er beträgt durchschnittlich 7,3.

Die Na^+ - und K^+ -Konzentration der Perfusionslösung wird mit Hilfe eines Atomabsorptions-Spektralphotometers

(Fa. Varian Techtron, Australia) kontrolliert. Die Meßwerte stimmen mit den Sollwerten nach Einwaage gut überein. Hinsichtlich unserer Fragestellung wird auf die Bestimmung der Calciumkonzentration besonderer Wert gelegt. Wegen der Fähigkeit des Calciums, sich mit Karbonaten und Phosphaten zu verbinden, hängt seine Verfügbarkeit vom Dissoziationsgrad ab. Nur in ionisierter Form vorliegendes Calcium ist biologisch wirksam (72, 74, 81).

Deshalb wird in dieser Arbeit zwischen der Calcium-Gesamtkonzentration (ionisiertes + gebundenes Calcium) und der eigentlich wirksamen Calcium-Ionen-Konzentration unterschieden und letztere ganz besonders beachtet.

Die Calcium-Gesamtkonzentration wird mit dem oben genannten Atomabsorptions-Spektralphotometer gemessen.

Die Calcium-Ionen-Konzentration ermittelt ein "Ionized Calcium Analyser Mod. SS-20" (Fa. Orion), der für Messungen im Vollblut konstruiert ist.

Eine Gegenüberstellung von Calcium-Gesamt- und Ionen-Konzentration zeigt Tabelle 12.

2.4. Präparation

Die für unsere Versuche benötigten Schafherzen beziehen wir vom örtlichen Schlachthof. Nur männliche Tiere werden verwendet. Unmittelbar nach der Tötung mit einem Bolzenschußgerät wird den an den Hinterläufen hochgezogenen Schafböcken von einem Metzger noch während des Ausblutens das Herz mit den anhängenden großen Gefäßstämmen entnommen. Dies dauert maximal zwei Minuten.

Sofort anschließend wird das Herz in Carbogen-durchperlter Ringerlösung von Zimmertemperatur gespült und das Blut schonend aus den Ventrikeln ausmassiert. Die großen Gefäße werden abgeschnitten, die Ventrikel von den Herzohren der Vorhöfe ausgehend mit einer Schere teilweise eröffnet, nochmals gespült und schließlich in die permanent mit Carbogen durchperlte Ringerlösung eines Transportgefäßes überführt.

Der Transport vom Schlachthof zum Labor der Medizinischen

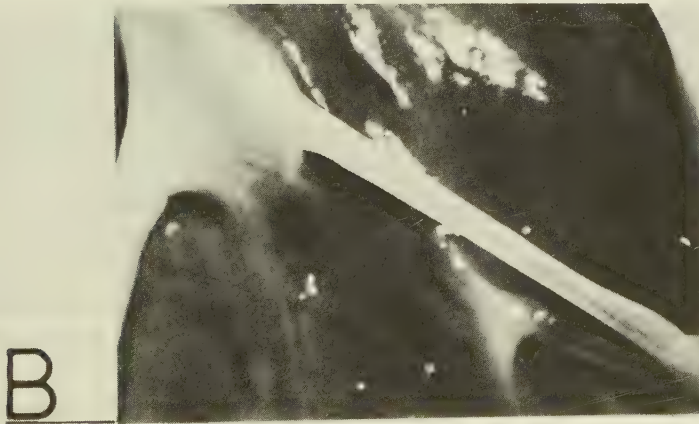


Abb.2: A) Eröffneter linker Ventrikel eines Schafherzens mit y-förmiger Aufzweigung des Erregungsleitungsgewebes in linksanterioren und linksposterioren Faszikel

B) Vergrößerung des in A markierten Ausschnittes
(Durchmesser des abgebildeten Fadens: 1,2 mm)

Klinik I dauert etwa 15 Minuten. Dort wird der linke Ventrikel parallel zum Septum aufgeschnitten und unter gleichzeitiger Lösung dehnungsgefährdeter Purkinje Fäden aufgeklappt. Mit Hilfe von Augenscheren und Pinzetten werden zentrale, frei verlaufende Purkinje Fäden, und zwar bevorzugt der links-anteriore und -posteriore Faszikel verwendet (Abb.2).

Diese Fäden haben einen Durchmesser zwischen 0,5 und 1,2 mm bei einer Länge von 10 - 20 mm. Sie werden bis zur experimentellen Verwendung in Carbogen-durchperilter Ringerlösung bei Zimmertemperatur aufbewahrt und innerhalb von etwa 4 Stunden verwendet, obwohl sie sich erfahrungsgemäß bis zu zehn Stunden gut halten können.

2.5. Allgemeiner Versuchsablauf

Ein Purkinje Faden wird in die mit Ringerlösung definierten Calcium-Gehalts perfundierte Meßkammer gelegt und unter Sicht eines Stereomikroskops (10x) mit feinen Stahlnadeln fixiert. Dabei wird das Präparat nur geringfügig (<5% der Ruhelänge) gedehnt, was sicher keine Änderung der Potentiale bzw. der Spontanaktivität verursacht (60).

Nach der Platzierung der Reizelektrode erfolgt die Stimulation (1 s^{-1}) mit sicher überschwelliger Stromstärke. Mit einem Mikromanipulator wird die Glaselektrode über das sich deutlich gegen das Bindegewebe abzeichnende Erregungsleitungs-gewebe gefahren und an einer geeigneten Stelle eingegangen.

Nach 15 - 30 Minuten ist es in der Regel gelungen mit einer, oft sogar mit allen zwei Elektroden stabil aus dem Purkinje Faden abzuleiten.

Die Reizstromstärke wird dann auf eben überschwellige Werte reduziert.

In der Meßkammer wird dem Präparat zwischen 75 und 105 Minuten Gelegenheit gegeben sich zu erholen und mit der jeweiligen Calcium-Ionen-Konzentration zu äquilibrieren (Äquilibrationszeit). Gegen Ende dieser Äquilibrationszeit werden Kontrollaufnahmen angefertigt.

Anschließend wird bei den Versuchskollektiven g-Strophanthin zugegeben und die **Veränderung** der Aktionspotentiale über eine bestimmte Zeit (grundsätzlich 105 - 120 Minuten) verfolgt und in regelmäßigen Abständen photographisch dokumentiert.

Bei den Kontrollkollektiven wird kein g-Strophanthin zugegeben. Die Präparate werden jedoch über einen den Versuchskollektiven völlig entsprechenden Zeitraum beobachtet. (Einzelheiten finden sich bei den einzelnen Versuchsgruppen unter 3. und 4.).

Für eine Verwertung der abgeleiteten Potentiale müssen folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

Ein steady state muß zumindest annähernd in der Äquilibrationszeit erreicht werden.

Die Elektrode muß nach der Zugabe des g-Strophanthins noch mindestens 75 Minuten in derselben Zelle bleiben.

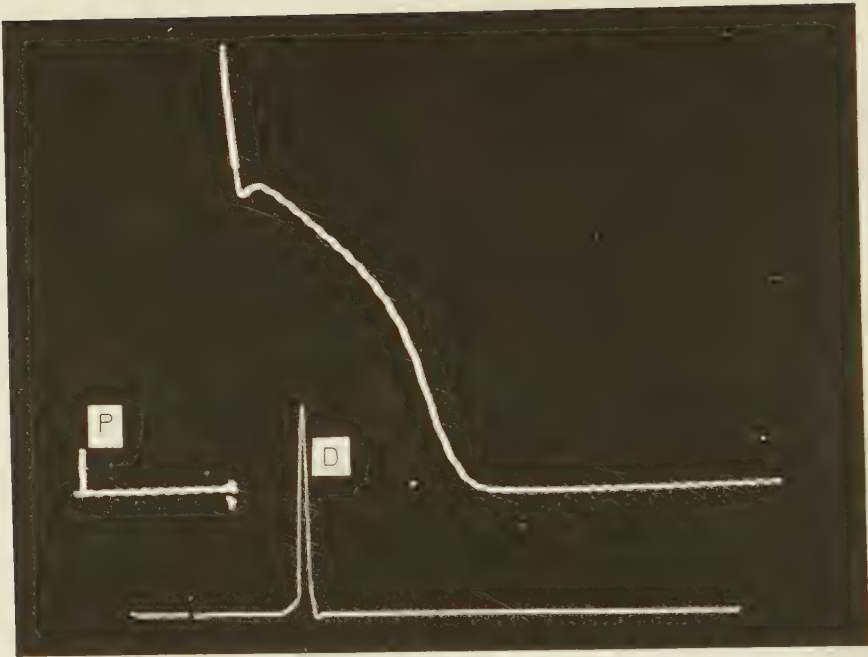


Abb. 5: Typische Originalregistrierung

D) Erster Differentialquotient der Aufstrichphase (Phase 0)
des Aktionspotentials ($V_{\max}$)

P Prüfimpuls für die Elektrode

2.6. Auswertung, Definition gemessener Parameter

Abb.3 zeigt eine typische Originalregistrierung.

Die photographierten Aktionspotentiale werden an einem Filmbetrachtungsgerät unter 9facher Vergrößerung ausgemessen und später statistisch verwertet.

Folgende Parameter werden gemessen (Abb.4):

Aktionspotentialamplitude (AP)	Höhe des gesamten Aktionspotentials in mV
Anstiegsamplitude (AP_{Na})	Höhe der schnellen Natriumphase (Phase 0) in mV
Overshoot (OS)	Höhe des von der AP_{Na} erreichten positiven Potentials in mV
Maximale Anstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials (V_{max})	Maximale Steilheit der AP_{Na} in V/s
Take off Potential (TOP)	Potential, von dem aus die AP_{Na} ansteigt in mV
Maximales diastolisches Potential (MDP)	gemessen in mV
Minimales diastolisches Potential (MinDP)	gemessen in mV
Diastolische Amplitude (DA)	berechnet als Differenz $MDP - MinDP$ in mV
Maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD)	Steilheit einer an die steilste Stelle der Diastole angelegten Tangente in mV/s
Aktionspotentialdauer (APD)	gemessen bei 90% Repolarisation zum TOP in ms
Effektive Refraktärperiode (ERP)	kürzester Abstand zweier fortgeleiteter Aktionspotentiale in ms
Extrasystolie	nur bei gleichzeitiger externer Reizung spontan auftretende, irreguläre Aktionspotentiale
Spontanaktivität	bei Wegnahme des externen Reizes bleiben die spontan aufgetretenen Aktionspotentiale bestehen

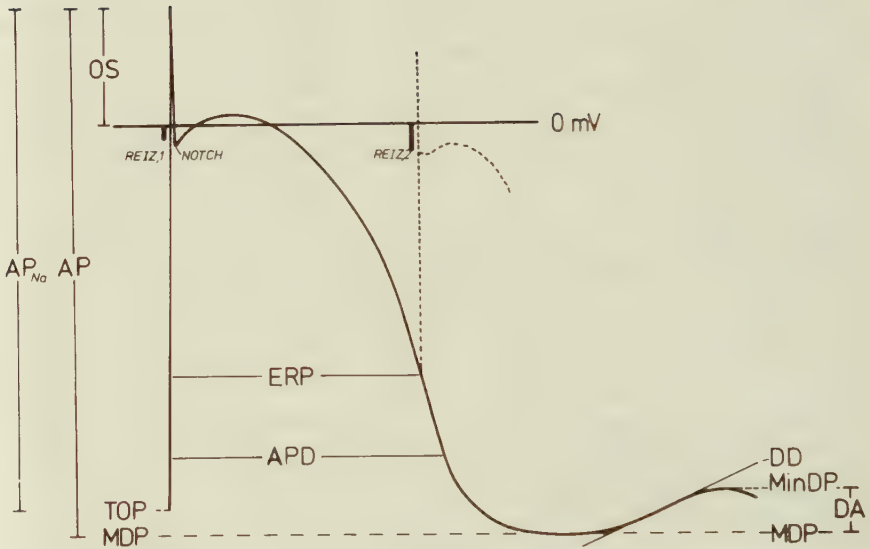


Abb.4: Schema eines Aktionspotentials zur Erläuterung gemessener Aktionspotentialparameter

2.7. Statistik (92)

Die in den Experimenten gewonnenen Meßdaten werden mit Hilfe entsprechender Programme auf einem Rechner (HP 9830 A) ausgewertet. Es werden Mittelwert ($\bar{x}$), Standardabweichung (s) und das Signifikanzniveau (p) errechnet. Hierzu werden folgende statistische Tests angewendet:

1) Der t-Test nach Fisher für nichtverbundene Stichproben

Zu seiner Durchführung wird zuerst bei jedem abgeleiteten Aktionspotential für jeden gemessenen Parameter (außer spontan auftretenden Aktionspotentialen) die Veränderung (Δx) zwischen zwei definierten Zeitpunkten berechnet: $\Delta x = x_{\text{Zeit 1}} - x_{\text{Zeit 2}}$

Durch dieses Vorgehen bleiben in diesem Zeitabschnitt wegfallende Ableitungen unberücksichtigt (Differenzbildung nicht möglich), und das Signifikanzniveau p ist somit vom Wegfall einzelner Aktionspotentiale unabhängig.

Die durch Differenzbildung errechneten Veränderungen eines Aktionspotentialparameters in einem definierten Zeitabschnitt werden mit dem t-Test zwischen den verschiedenen Kollektiven verglichen.

Für Versuche mit g-Strophanthin wird hierzu ein Zeitabschnitt mit deutlicher Ouabainwirkung verwendet, nämlich der Abschnitt zwischen $t = 30$ und 75 min nach Zugabe des g-Strophanthins.

Zur Untersuchung der Wirkungen des Verapamils (ohne g-Strophanthin) wird zusätzlich die Veränderung (Δx) während der ersten 30 Minuten nach Zugabe dieses Pharmakons (d.h. zwischen $t = -30$ und $t = 0$ min) mit einem Kontrollkollektiv statistisch verglichen.

2) Der Vierfelder-Test

Mit seiner Hilfe werden Ouabain-bedingte, unabhängig vom externen Reiz auftretende Aktionspotentiale (Extrasystolie und Spontanaktivität) verglichen.

Als statistisch signifikant gilt ein Signifikanzniveau p von $p < 0,05$.

Mittelwerte, Standardabweichungen und statistische Prüfgrößen werden mit Hilfe folgender Formeln errechnet (92):

Mittelwert $\bar{x}$

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Standardabweichung s

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Prüfgröße t des Fisher-Tests

$$t = \frac{\bar{x}_1 - \bar{x}_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

Prüfgröße χ^2 des Vierfelder-Tests

$$\chi^2 = \frac{n (a d - b c)^2}{(a + b) (c + d) (a + c) (b + d)}$$

3. CALCIUM-IONEN UND G-STROPHANTHIN

Wir verwenden für unsere Versuche drei verschiedene Calcium-Ionen-Konzentrationen, nämlich 1,2 mval/l, 3,6 mval/l und 7,2 mval/l (Tab.12).

Für jede dieser drei Konzentrationen wird nach einer Äquilibrationszeit (2.5.) je ein Kontrollkollektiv (ohne g-Strophanthin) und ein Versuchskollektiv (mit g-Strophanthin) über 105 min beobachtet, wobei streng auf zeitliche Parallelität geachtet wird. Eventuell anfallende, nicht Ouabain-bedingte Änderungen werden mit Hilfe der Kontrollkollektive erfaßt und bei der Beurteilung der Ergebnisse berücksichtigt.

3.1. Problematik niedriger Calcium-Ionen-Konzentration

Bei mittelhoher und hoher Calcium-Ionen-Konzentration (3,6 bzw. 7,2 mval/l) konnten nur 5 von 67 anfänglich guten Ableitungen nicht verwendet werden, weil sie auch nicht annähernd einen steady state erreichten.

Bei diesen Aktionspotentialen verloren das Plateau und der Overshoot während der Äquilibrationszeit rasch an Höhe und die Zellen depolarisierten.

In den Versuchen mit niedriger Calcium-Ionen-Konzentration (1,2 mval/l) war die Zahl sich derartig verändernder Aktionspotentiale wesentlich größer (8 von 30 Ableitungen).

Es ist bekannt, daß Purkinje Fäden von Schaf und Kalb bei Calciumentzug innerhalb von etwa einer halben Stunde zugrunde gehen (111). Ferner weiß man, daß Calciummangel interzelluläre Verbindungen (intercalated disks) schädigen kann und Calcium-Ionen für den healing-over-Prozeß der Zellmembran und deren Stabilität notwendig sind (23, 24, 25, 54,61). Die Zellen scheinen sich somit in der verwendeten niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l in einem so labilen Zustand zu befinden, daß ein Teil keinen steady state erreichen bzw. halten kann.

Für eine erhöhte Labilität der Zellen in niedriger Calcium-Konzentration und für ihre verminderte Fähigkeit zur Selbstheilung spricht auch unsere Beobachtung, daß häufigere

Punktionsversuche mit der Mikroelektrode sowie Korrekturen des Elektrodensitzes die oben beschriebenen Veränderungen des Aktionspotentials in niedriger Calcium-Konzentration auslösen bzw. beschleunigen können.

Bei allen verwendeten Calcium-Ionen-Konzentrationen werden solche vorgeschädigte, sich in der Äquilibrationszeit relativ stark verändernde Zellen weder in den Kontroll- noch in den Versuchskollektiven verwendet.

3.2. Kontrollkollektive (ohne g-Strophanthin)

In der mittelhohen Calcium-Konzentration (3,6 mval/l) werden 9 Ableitungen aus 8 Präparaten verwendet, in der niedrigen (1,2 mval/l) 8 Ableitungen aus 6 Präparaten und in der hohen (7,2 mval/l) 5 Ableitungen aus 4 Präparaten. Keiner der beobachteten Purkinje Fäden zeigt bei der verwendeten Kalium-Konzentration von 4,7 mval/l zu irgendeinem Zeitpunkt Spontanaktivität.

In der folgenden Beschreibung des Verhaltens der Aktionspotentialparameter in den Kontrollkollektiven werden jeweils die Mittelwerte mit Standardabweichung ($\bar{x} \pm s$) zum Zeitpunkt $t = 0$ min (entspricht genau dem Zeitpunkt der g-Strophanthinzugabe in den Versuchskollektiven) und zur Zeit $t = 90$ min angegeben.

Das maximale diastolische Potential (MDP) (Abb.5) bleibt in der mittleren (3,6 mval/l) bzw. hohen (7,2 mval/l) Calcium-Ionen-Konzentration konstant mit $-84,2 \pm 2,6$ bzw. $-84,6 \pm 2,6$ mV zur Zeit $t = 0$ min und $-84,5 \pm 3,3$ bzw. $-84,2 \pm 1,7$ mV bei $t = 90$ min.

In der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l zeigt sich im gleichen Zeitraum eine geringe Depolarisation von $-83,4 \pm 2$ mV auf $-82,0 \pm 2,8$ mV.

Die Aktionspotentialamplitude (AP) (Abb.5) bleibt ebenfalls in der mittleren und hohen Calcium-Konzentration unverändert mit $130,0 \pm 4,6$ bzw. $134,3 \pm 1,8$ mV ($t = 0$ min) und $129,8 \pm 4,6$ bzw. $135,4 \pm 2,5$ mV ($t = 90$ min).

Im niedrigen Calcium hingegen nimmt die AP geringfügig von $129,5 \pm 4,3$ mV auf $127,1 \pm 5,1$ mV ab.

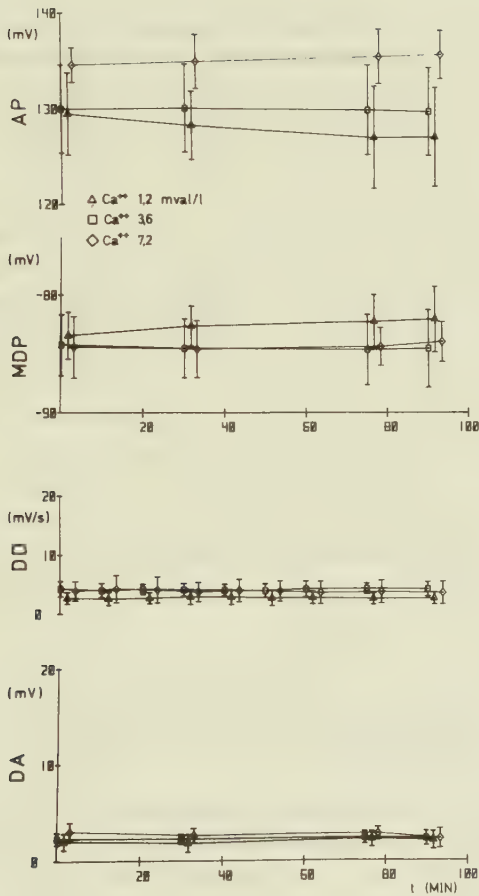


Abb.5: Verhalten von diastolischer Amplitude (DA), maximaler diastolischer Depolarisationsgeschwindigkeit (DD), maximalem diastolischem Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP) unter Kontrollbedingungen bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

In allen drei Calcium-Konzentrationen bleibt die maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit sowie die diastolische Amplitude über die beobachtete Zeit hinweg völlig konstant:

Die maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD) (Abb.5) beträgt in der mittleren Calcium-Ionen-Konzentration zur Zeit $t = 0$ min $4,3 \pm 1,3$ mV/s und zur Zeit $t = 90$ min. $4,2 \pm 1,2$ mV/s, sowie zu analogen Zeitpunkten im hohen Calcium $3,8 \pm 1,6$ bzw. $3,7 \pm 1,9$ mV/s und im niedrigen $2,7 \pm 1$ bzw. $2,6 \pm 1$ mV/s.

Die diastolische Amplitude (DA) (Abb.5) hat zum Zeitpunkt $t = 0$ bzw. 90 min Werte von $2,3 \pm 0,6$ bzw. $2,3 \pm 0,7$ mV (mittleres Calcium), $2,9 \pm 0,9$ bzw. $2,3 \pm 1$ mV (hohes Calcium) sowie $2,0 \pm 0,8$ bzw. $2,1 \pm 0,9$ mV (niedriges Calcium).

Bei unveränderter Diastole ist verständlich, daß das take off Potential (TOP) (Abb.6) parallel zum maximalen diastolischen Potential verläuft.

Es bleibt unverändert in der mittleren ($-81,9 \pm 2,4$ und $-82,3 \pm 3$ mV) und hohen ($-81,7 \pm 1,7$ und $-81,8 \pm 1$ mV) Calcium-Ionen-Konzentration (jeweils $t = 0$ und 90 min). Im niedrigen Calcium depolarisiert es leicht von $-81,4 \pm 2,7$ auf $-79,6 \pm 3,3$ mV.

Die schnelle Anstiegsphase des Aktionspotentials (Phase 0) ist am Purkinje Faden abhängig vom TOP, welches somit die Anstiegsamplitude, deren Steilheit $V_{\max}$ und den Overshoot beeinflusst (28, 112):

Die Anstiegsamplitude (AP_{Na}) (Abb.6) bleibt deshalb wiederum in mittlerer (mit Werten von $127,7 \pm 4,6$ bzw. $127,6 \pm 4,6$ mV zur Zeit $t = 0$ bzw. 90 min) und hoher ($130,7 \pm 1,7$ bzw. $131,1 \pm 2,2$ mV) Calcium-Ionen-Konzentration konstant. Eine geringgradige Abnahme ist hingegen im niedrigen Calcium von $126,5 \pm 4,3$ auf $124,2 \pm 5,9$ mV zu verzeichnen.

Analog dazu fällt in der Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ($V_{\max}$) (Abb.6) des Aktionspotentials von $742,5 \pm 30$ auf $725 \pm 47,5$ V/s ab, während sie in den beiden höheren Konzentrationen mit 765

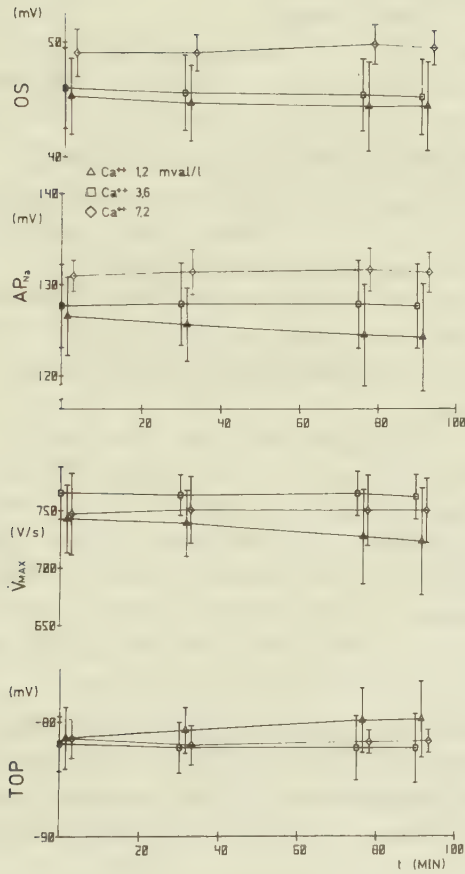


Abb.6: Verhalten von Take off Potential (TOP), maximaler Anstiegsgeschwindigkeit ($\dot{V}_{\text{max}}$), Anstiegsamplitude (AP_{Na}) und Overshoot (OS) des Aktionspotentials unter Kontrollbedingungen bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

$\pm 22,5$ und 765 ± 20 V/s (mittleres Calcium) sowie 745 ± 35 und $750 \pm 27,5$ V/s (hohes Calcium) annähernd konstant bleibt.

In allen verwendeten Konzentrationen verändert sich der Overshoot (OS) (Abb.6) kaum.

Er beträgt zur Zeit $t = 0$ bzw. $t = 90$ min $46 \pm 3,5$ bzw. $45,3 \pm 3,3$ mV in mittlerer, $48,8 \pm 2,1$ bzw. $49,3 \pm 1,5$ mV in hoher, sowie $45,3 \pm 3,3$ bzw. $44,5 \pm 9,3$ mV in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration.

Die Aktionspotentialdauer (APD) und die effektive Refraktärperiode (ERP) (Abb.7) verkürzen sich in allen drei Calcium-Ionen-Konzentrationen geringfügig.

Im mittleren Calcium nimmt die Aktionspotentialdauer von $300,3 \pm 38,3$ ms ($t = 0$ min) auf $294,8 \pm 47,9$ ms ($t = 90$ min) ab und die effektive Refraktärperiode von $310,9 \pm 34$ auf $304,2 \pm 40,8$ ms.

In der hohen Calcium-Konzentration verkürzen sich beide Parameter ebenfalls parallel zueinander und zwar von $297,2 \pm 16,2$ auf $285,5 \pm 13,6$ ms hinsichtlich der APD und von $305,5 \pm 12,7$ auf $291 \pm 13,5$ ms bezüglich der ERP.

Die Veränderungen sind am ausgeprägtesten in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von $1,2$ mval/l mit einer Verkürzung der APD von $323 \pm 33,2$ auf $307 \pm 23,4$ ms und der ERP von $331,2 \pm 20,1$ auf $313,1 \pm 23,3$ ms.

Zusammenfassend ist festzustellen, daß unter Kontrollbedingungen alle beobachteten Parameter in der mittleren und hohen Calcium-Ionen-Konzentration nach der Äquilibrationszeit noch mindestens 1 1/2 Stunden praktisch unverändert bleiben.

In der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration hingegen sind die Zellen etwas labiler und zeigen eine geringe Tendenz zu depolarisieren und an Aktionspotentialhöhe, Anstiegsgeschwindigkeit sowie Aktionspotentialdauer und effektiver Refraktärperiode zu verlieren (siehe auch 3.1.).

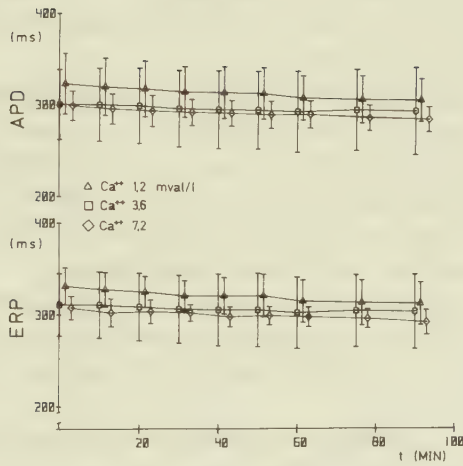


Abb.7: Verhalten der Aktionspotentialdauer (APD) und der effektiven Refraktärperiode (ERP) unter Kontrollbedingungen bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

3.3. Versuchskollektive (mit g-Strophanthin)

Bei allen verwendeten Calcium-Ionen-Konzentrationen (1,2 , 3,6 , 7,2 mval/l) wird nach der Äquilibrationszeit g-Strophanthin (Ouabain) zugegeben ($t = 0$ min), bis der Purkinje Faden einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-7}$ M exponiert ist. Die Entwicklung des Aktionspotentials in der daran anschließenden Zeit wird zwischen den verschiedenen Calcium-Konzentrationen verglichen.

Keine einzige Ableitung zeigt vor g-Strophanthin-Zugabe zu irgendeinem Zeitpunkt spontane Aktivität ($K^{+}4,7$ mval/l). Wenn während der Perfusion mit Ouabain "Extrasystolie" oder "Spontanaktivität" (Definition siehe 2.6.) von mehr als 3 min Dauer auftreten, werden von dieser Zeit an die Aktionspotentiale nicht mehr ausgemessen, da die meisten Parameter frequenzabhängig sind (47, 76), und auch die g-Strophanthin-Wirkung durch Frequenzsteigerung verstärkt wird (22, 47, 49, 106), sodaß die Messungen verfälscht würden.

Die Zahl der verwendbaren Ableitungen nimmt deshalb im Laufe der Perfusion mit g-Strophanthin ab:

In der hohen Calcium-Ionen-Konzentration entfallen bis $t = 90$ min von ursprünglich 15 Ableitungen (aus 10 Präparaten) nur 2, und in der niedrigen Calcium-Konzentration nur 4 von anfänglich 14 Ableitungen (aus 10 Präparaten). In der mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration hingegen sind es 16 Ableitungen, die nach 90 min ($t = 90$ min) Perfusion mit Ouabain wegen spontan auftretender Aktionspotentiale nicht mehr verwendet werden können. Dabei entfallen allein zwischen $t = 75$ und 90 min 11 Ableitungen.

Wegen dieser raschen Abnahme der verwertbaren Ableitungen in der mittleren Calcium-Ionen-Konzentration nach $t = 75$ min sind die entsprechenden Werte für $t = 90$ min in den Abbildungen gesondert eingetragen und sollen die Tendenz der weiteren Entwicklung nur andeuten.

Aus denselben Gründen werden in der folgenden Beschreibung der Versuchsergebnisse Mittelwert und Standardabweichung der Veränderungen (Δx) zwischen $t = 30$ und 75 min analog zum statistischen Vorgehen (siehe 2.7.) angegeben.

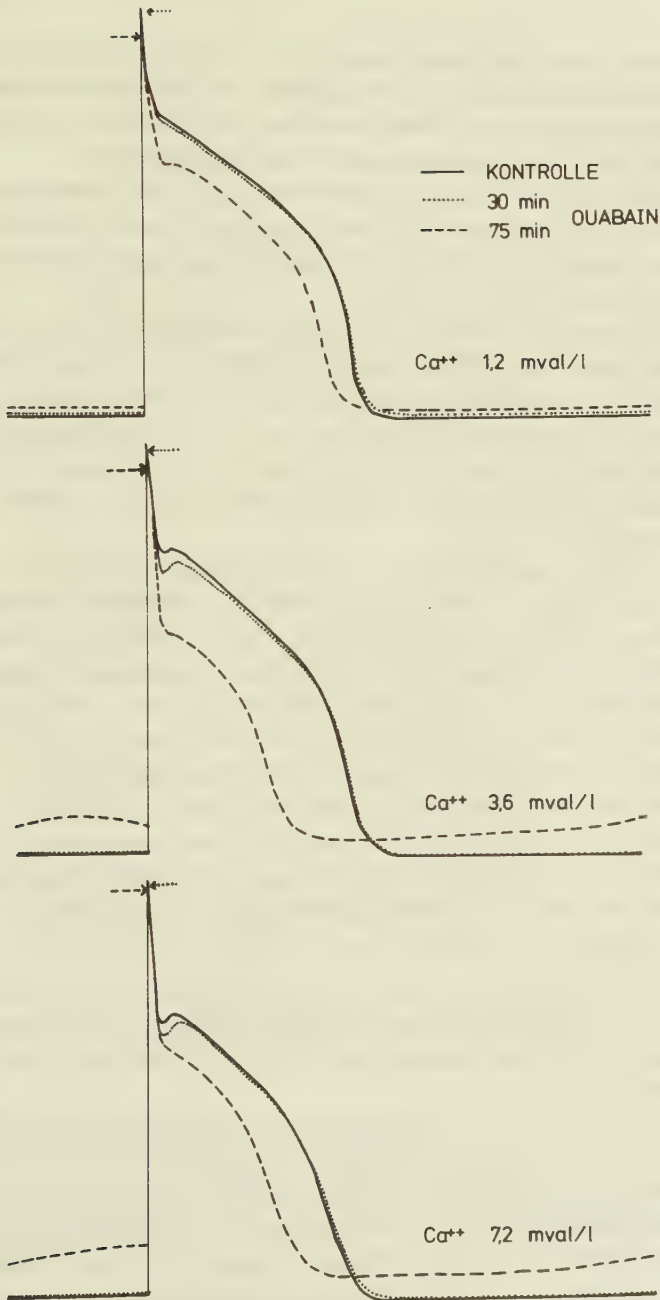


Abb.8: Charakteristische Veränderungen von Aktionspotentialen durch g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{M}$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

Abb.8 zeigt an Hand charakteristischer Ableitungen, wie g-Strophanthin in Abhängigkeit von der Expositionszeit die Form der Aktionspotentiale bei verschiedenen extrazellulären Calcium-Ionen-Konzentrationen verändert.

Dabei fallen neben den Veränderungen der gemessenen Aktionspotentialparameter (siehe unten) die ausgeprägten Wirkungen von Ouabain auf die Plateauphase und den Notch der Aktionspotentiale auf:

Ein Notch ist während der Äquilibrationszeit in der hohen Calcium-Ionen-Konzentration von 7,2 mval/l bei allen Aktionspotentialen deutlich ausgeprägt, in der mittelhohen (3,6 mval/l) jedoch nur bei etwa der Hälfte der Ableitungen. Im niedrigen Calcium (1,2 mval/l) ist hingegen während der Äquilibrationszeit in keinem einzigen Experiment ein Notch sichtbar.

Bei Aktionspotentialen, welche bereits während der Äquilibrationszeit einen deutlichen Notch zeigen, verstärkt sich dieser anfänglich unter dem Einfluß von g-Strophanthin, verkleinert sich anschließend mit zunehmender Verkürzung der APD und verschwindet schließlich meist völlig. Gleichzeitig verschiebt sich der Scheitel des Plateaus der Aktionspotentiale zu negativeren Potentialwerten.

Bei Aktionspotentialen, welche - wie in der niedrigen und zum Teil in der mittelhohen Calcium-Konzentration - keinen Notch besitzen, entwickelt sich ein solcher in etwa der Hälfte der Fälle unter der Einwirkung von Ouabain und verschwindet schließlich wieder.

In den ersten 30 Minuten der Perfusion mit g-Strophanthin sind die Veränderungen aller Parameter in den beiden höheren Calcium-Ionen-Konzentrationen nur sehr gering ausgeprägt.

In der niedrigen Konzentration hingegen sind sie zum Teil (bei AP, AP_{Na} , V_{max} , OS) recht deutlich.

Wenn man jedoch den Verlauf der Kontrollkollektive (3.2.) beachtet, wo sich diese Parameter im niedrigen Calcium ebenfalls stärker verändern, dann sind keine Ouabain-bedingten (!) Unterschiede zwischen den drei verwendeten Calcium-Ionen-Konzentrationen während der ersten 30 min

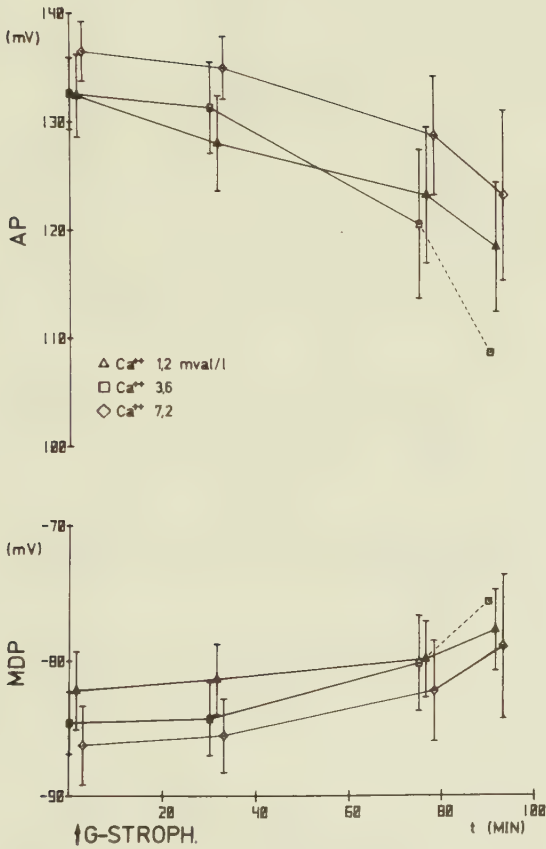


Abb.9: Verlauf des maximalen diastolischen Potentials (MDP) und der Aktionspotentialamplitude (AP) während der Perfusion mit g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{M}$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

der Perfusion mit g-Strophanthin nachzuweisen.

3.3.1. Maximales diastolisches Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP) (Abb.9)

In den ersten 30 min nach g-Strophanthinzugabe sind - wie bei allen anderen Aktionspotentialparametern - g-Strophanthin-bedingte Veränderungen in allen drei Calcium-Ionen-Konzentrationen nur geringgradig ausgeprägt.

Zwischen $t = 30$ und 75 min jedoch bewirkt Ouabain deutlich unterschiedliche Veränderungen von MDP und AP:

In dieser Zeitspanne nimmt das MDP in der mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration von $3,6$ mval/l um $4,4 \pm 1,7$ mV und in der hohen ($7,2$ mval/l) um $3,3 \pm 2,3$ mV ab, depolarisiert aber in der niedrigen Calcium-Konzentration ($1,2$ mval/l) nur um $2,1 \pm 2,5$ mV.

Die g-Strophanthinwirkung ist bezüglich des MDP in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration signifikant ($p < 0,02$) schwächer als in der mittelhohen, gegenüber der hohen Calciumkonzentration besteht jedoch kein Unterschied.

Die Aktionspotentialamplitude nimmt im gleichen Zeitraum um $11,4 \pm 3,9$ mV (mittleres Calcium) und um $6,3 \pm 4$ mV (hohes Calcium) sowie um $5,9 \pm 3,9$ mV (niedriges Calcium) ab.

Hierbei ist die Wirkung des Ouabains sowohl in niedriger als auch in hoher Calcium-Ionen-Konzentration signifikant schwächer ($p < 0,002$ bzw. $p < 0,003$) als in mittelhoher Konzentration.

3.3.2. Take off Potential (TOP), Anstiegsgeschwindigkeit ($V_{\max}$), Anstiegsamplitude (AP_{Na}), Overshoot (OS) (Abb. 10 und 11)

Auch diese Parameter werden (bei Berücksichtigung der Kontrollkollektive) in den ersten 30 min durch g-Strophanthin nur geringfügig verändert, während sie sich in der anschließenden Zeit in den höheren Calcium-Konzentrationen deutlich mehr verkleinern als in der niedrigen.

Das Take off Potential depolarisiert in der mittelhohen

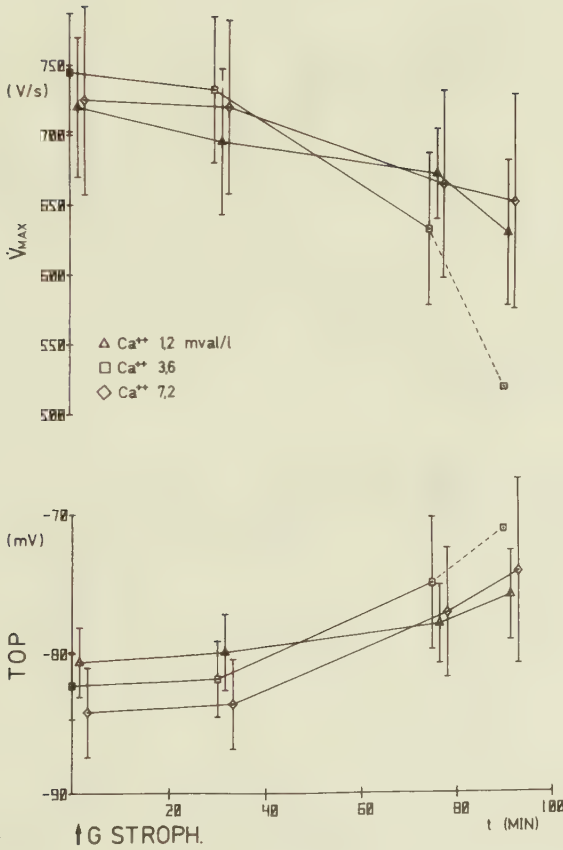


Abb.10: Verlauf des Take off Potentials (TOP) und der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit (V_{max}) während der Perfusion mit g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} M$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

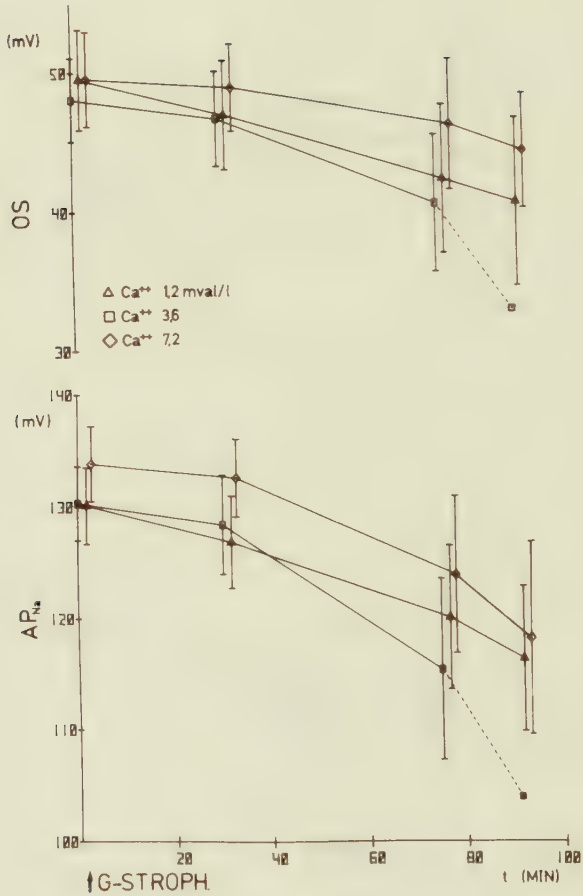


Abb.11: Verlauf der Anstiegsamplitude (AP_{Na}) und des Overshoots (OS) während der Perfusion mit g -Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{M}$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l zwischen $t = 30$ und 75 min um $7,1 \pm 3,7$ mV und in der hohen von 7,2 mval/l um $6 \pm 3,5$ mV.

In der niedrigen Konzentration von 1,2 mval/l nimmt es in der gleichen Zeit nur um $2,5 \pm 2,5$ mV ab.

Die beiden höheren Calcium-Konzentrationen verursachen im Vergleich zur niedrigen eine signifikante ($p < 0,001$ bzw. $p < 0,01$) Verstärkung der Ouabainwirkung auf das TOP.

Ein ähnliches Verhalten wie das TOP zeigt auch die Anstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials, welche in der entsprechenden Zeit im mittelhohen Calcium um $97,3 \pm 47$ V/s sowie im hohen Calcium um $52,8 \pm 36,3$ V/s, in niedrigen jedoch nur um $33,3 \pm 36,2$ V/s abnimmt.

Die Anstiegsamplitude verkleinert sich zwischen $t = 30$ und 75 min um $13,7 \pm 6,3$ mV in der mittelhohen Calcium-Konzentration, um $8,6 \pm 4,8$ mV im hohen Calcium und im niedrigen um $7,2 \pm 3,8$ mV.

Hinsichtlich von $V_{\max}$ und AP_{Na} bewirkt g-Strophanthin in der niedrigen und hohen Calcium-Ionen-Konzentration signifikant geringere Veränderungen ($p < 0,002$ bzw. $p < 0,02$) als in der mittelhohen.

Etwas abweichend von den oben genannten Parametern verläuft die Entwicklung beim Overshoot. Dieser verändert sich nämlich in der hohen Calcium-Konzentration mit nur $3,2 \pm 2,8$ mV am geringgradigsten, während er im niedrigen und mittleren Calcium stärker abnimmt (um $5 \pm 3,5$ mV bzw. $6,8 \pm 3,7$ mV). Hierbei besteht nur zwischen den beiden höheren Konzentrationen ein signifikanter Unterschied ($p < 0,005$) in dem Sinne, daß der OS in hoher Calcium-Konzentration am stabilsten und in mittlerer am labilsten ist.

3.3.3. Aktionspotentialdauer (APD) und effektive Refraktärperiode (ERP) (Abb.12)

Diese beiden Parameter zeigen einen eindeutig biphasischen Verlauf. Bei allen Ableitungen und in jeder verwendeten Calcium-Ionen-Konzentration findet sich nach Beginn der Perfusion mit g-Strophanthin eine anfängliche Verlängerung

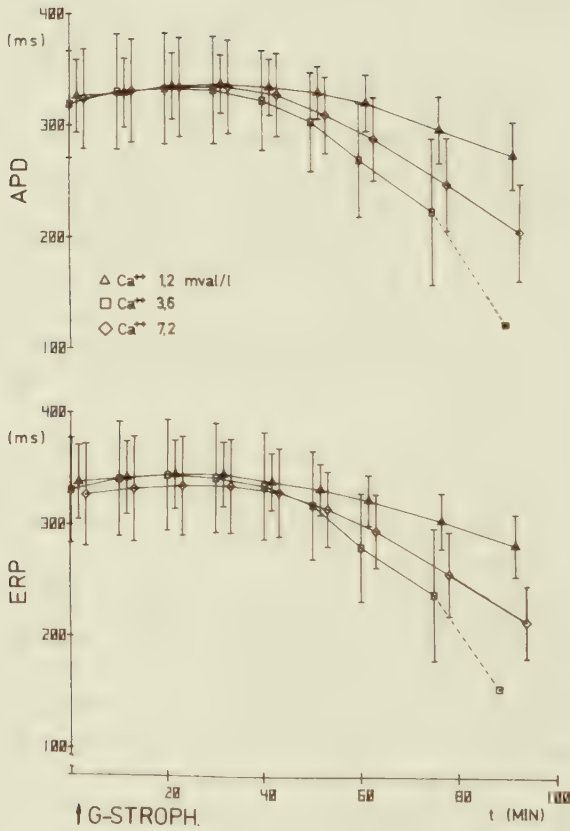


Abb.12: Verlauf der Aktionspotentialdauer (APD) und der effektiven Refraktärperiode (ERP) während der Perfusion mit g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{M}$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

der Aktionspotentialdauer und der effektiven Refraktärperiode mit anschließender zunehmender Verkürzung dieser Parameter.

Hinsichtlich der APD liegt das Maximum der Verlängerung in der mittleren Calcium-Konzentration bei $t = 20$ min mit einer Zunahme um 13 ms (Mittelwert). In der hohen Calcium-Konzentration verlängert sich die APD um 10 ms ($t = 20$ min) und in der niedrigen ebenfalls um 10 ms ($t = 30$ min).

In der folgenden Zeit verkürzen sich die Aktionspotentiale, wobei zunehmende Unterschiede zwischen den verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen auftreten.

Zwischen $t = 30$ und 75 min nach Ouabainzugabe nimmt die APD im mittelhohen Calcium ($3,6 \text{ mval/l}$) um $100,4 \pm 45,2 \text{ ms}$ ab und in der hohen Konzentration ($7,2 \text{ mval/l}$) um $86,1 \pm 47,5 \text{ ms}$. Die Verkürzung ist in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von $1,2 \text{ mval/l}$ im gleichen Zeitraum mit $44,8 \pm 20,3 \text{ ms}$ am kleinsten.

Das Verhalten der effektiven Refraktärperiode gleicht dem der APD. Bei allen Calcium-Konzentrationen liegt das Maximum der ERP bei $t = 20$ min mit Verlängerungen um 13 ms (mittleres Calcium), 8 ms (hohes Calcium) sowie 7 ms (niedriges Calcium).

In der anschließenden Verkürzungsphase nimmt die ERP zwischen $t = 30$ und 75 min in der Calcium-Ionen-Konzentration von $3,6 \text{ mval/l}$ um $89,1 \pm 40 \text{ ms}$ und in der von $7,2 \text{ mval/l}$ um $77 \pm 50,6 \text{ ms}$ ab.

In der niedrigen Konzentration von $1,2 \text{ mval/l}$ ist die Verkürzung mit $45,5 \pm 21,2 \text{ ms}$ wesentlich geringer.

Bei der APD und ERP ist die Verlängerung zwischen $t = 0$ und 30 min in allen verwendeten Calcium-Ionen-Konzentrationen gegenüber den entsprechenden Kontrollen signifikant ($p < 0,01$), zwischen den verschiedenen Calcium-Konzentrationen bestehen jedoch keine Unterschiede.

Solche treten erst während der Verkürzungsphase in Erscheinung:

APD und ERP nehmen in den höheren Calcium-Ionen-Konzentrationen signifikant stärker ab als in der niedrigen. Wenn man zwischen der Konzentration von $1,2$ und $3,6 \text{ mval/l}$

vergleicht, ist $p < 0,001$ hinsichtlich der APD und $< 0,01$ hinsichtlich der ERP. Beim Vergleich von 1,2 und 7,2 mval/l Calcium hat p für die APD einen Wert von $< 0,01$ und für die ERP einen Wert von $< 0,05$.

Zwischen den beiden höheren Calcium-Konzentrationen besteht kein Unterschied bezüglich der g-Strophanthinwirkung.

3.3.4. Maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD), diastolische Amplitude (DA), diastolische Oszillationen (TD) (Abb.13)

In den beiden höheren Calcium-Ionen-Konzentrationen von 3,6 bzw. 7,2 mval/l bleibt die maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit etwa 20 min lang konstant, um dann steil in s-förmigem Verlauf anzusteigen.

Im niedrigen Calcium hingegen ist die Zunahme kaum meßbar. In der Zeit zwischen $t = 30$ und 75 min nach g-Strophanthin-zugabe nimmt die DD in der mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration um $22,8 \pm 17,6$ mV/s zu und in der hohen um $15,5 \pm 11,4$ mV/s.

In der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration bleibt sie mit einer Zunahme von nur $1,5 \pm 2$ mV/s fast unverändert. Die diastolische Amplitude ist ein Maß für die effektive Depolarisation in der Diastole. Sie zeigt einen der DD entsprechenden Verlauf und bleibt während der ersten 30 min unverändert, um anschließend nur in den höheren Konzentrationen deutlich anzusteigen.

Zwischen $t = 30$ und 75 min nimmt die DA im mittleren Calcium um $3,7 \pm 2,9$ mV zu und im hohen um $3,6 \pm 2,3$ mV.

In der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration bleibt die DA mit einer Zunahme von nur $0,4 \pm 0,6$ mV de facto unbeeinflusst.

Der Verlauf von DD und DA ist in den höheren Calcium-Ionen-Konzentrationen signifikant steiler ($p < 0,001$) als in der niedrigen.

Die höheren Konzentrationen hingegen unterscheiden sich nicht voneinander. Mit Hilfe der DD und DA werden sowohl die sogenannte langsame diastolische Depolarisation (26), als auch diastolische Oszillationen erfaßt. Unter unseren

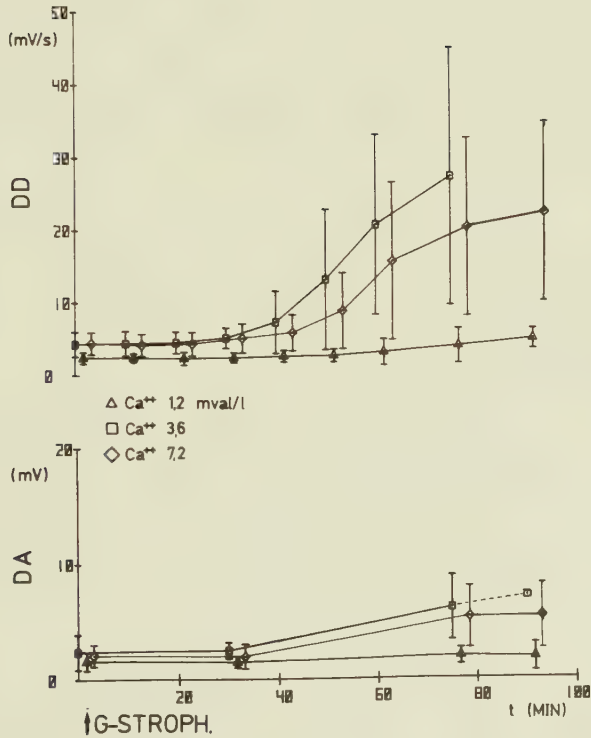


Abb.13: Verlauf der diastolischen Amplitude (DA) und der maximalen diastolischen Depolarisationsgeschwindigkeit (DD) während der Perfusion mit g-Strophenthin ($2,5 \times 10^{-7}M$) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

Versuchsbedingungen wird ein gleitender Übergang von langsamer diastolischer Depolarisation in diastolische Oszillationen gefunden (Abb.14).

Diastolische Oszillationen, welche - wie in unseren Experimenten - bei noch gut erhaltenem MDP unter Digitaliseinwirkung auftreten, werden in der anglo-amerikanischen Literatur als "low amplitude potentials" (87) und "transient depolarisations (TD)" (35) bezeichnet. Diese diastolischen Oszillationen (TD) sind in Amplitude und Kopplungsintervall abhängig von der Reizfrequenz und treten besonders deutlich hervor, wenn eine externe Reizserie plötzlich abgebrochen wird (22,35).

Da bei unserer Versuchsdurchführung jedoch permanent mit konstanter Frequenz (1 s^{-1}) gereizt wird, treten TD nur dann in Erscheinung, wenn sie vor dem nächsten applizierten Reiz entstehen. Dies ist erst bei fortgeschrittener Intoxikation der Fall.

Die Beobachtung des Aktionspotentials bei ununterbrochener Reizung entspricht unserer Meinung nach am ehesten den physiologischen Bedingungen am Purkinje Faden in vivo mit seiner regelmäßigen Erregung durch übergeordnete Schrittmacher. Nur in einigen Fällen nahmen wir den Reiz kurzzeitig weg, um die Oszillationen ausschwingen zu lassen und damit zu verifizieren, daß es sich wirklich um TD handelt. Dies bestätigte sich in jedem Fall.

In der mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration treten in 10 der 14 Präparate deutlich sichtbare Oszillationen auf. Im hohen Calcium sind sie ebenfalls häufig und in etwa gleich deutlicher Ausprägung zu finden (8 von 10 Präparaten). Sehr spärlich und wegen ihrer geringen Amplitude (siehe DA) meist nicht sicher zu verifizieren sind sie hingegen in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l. Nur 3 von 10 Präparaten lassen hier zum Teil fragliche TD erkennen.

Vor allem in den höheren Konzentrationen ist ein zeitlicher Zusammenhang zwischen dem Auftreten von TD und vom externen Reiz unabhängiger Aktionspotentiale auffallend.

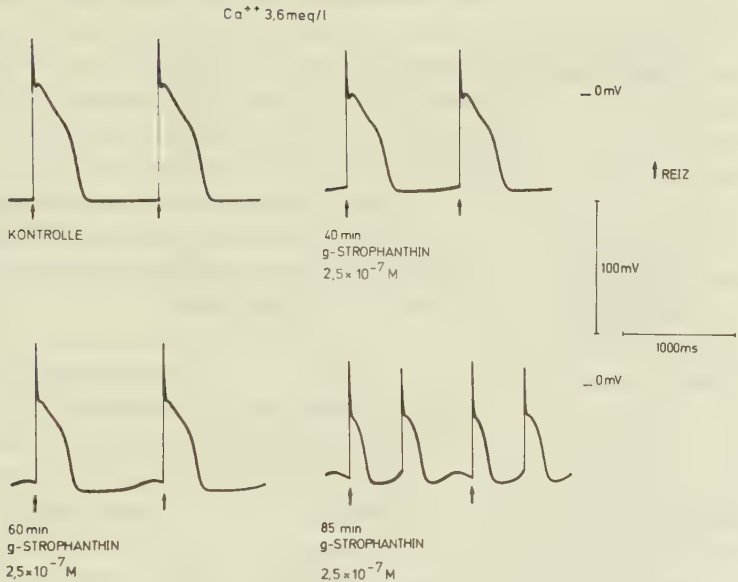


Abb.14: Entstehung von Bigeminie-ähnlichen Aktionspotentialen durch echte Schrittmacheraktivität.

Nach Zugabe von g-Strophanthin nimmt zuerst die diastolische Depolarisation zu (40 min), dann treten diastolische Oszillationen auf (60 min), die schließlich nach jedem durch externen Reiz ausgelösten Aktionspotential in eine Extrasystole übergehen (85 min).

3.3.5. Extrasystolie und Spontanaktivität (Abb.15)

In der mittleren Calcium-Ionen-Konzentration (3,6 mval/l) entwickeln 12 von 14 Präparaten (entsprechend 86%) im beobachteten Zeitraum von 105 min der Perfusion mit g-Strophanthin Extrasystolie und/oder Spontanaktivität (Definition siehe 2.6.). Die Verteilung von Extrasystolie und Spontanaktivität ist dabei regellos. In 9 von diesen 12 arrhythmischen Präparaten zeigen sich unabhängig vom externen Reiz auftretende Aktionspotentiale, welche wir wegen ihrer großen Ähnlichkeit mit entsprechenden Erscheinungen in vivo als "Bigeminie"-ähnlich bezeichnen.

Einen kontinuierlichen runden Übergang von diastolischer Oszillation (TD) in ein vorzeitig einfallendes Aktionspotential, wie er für echte Schrittmachneraktivität charakteristisch ist (26), finden wir in 4 Fällen.

Abb.14 zeigt eine solche Entwicklung mit Entstehung von charakteristischen Extrasystolen vom Bigeminustyp:

Eine unter g-Strophanthin allmählich entstehende TD überholt den nächsten applizierten Reiz (d.h. das Kopplungsintervall nimmt ab), erreicht das Schwellpotential und geht kontinuierlich in eine Extrasystole über, deren nachfolgende TD die Schwelle nicht mehr erreicht.

In den übrigen Fällen von irregulär auftretenden Aktionspotentialen besteht meist eine enge Beziehung der vom externen Reiz unabhängigen Potentiale zum Scheitel der TD.

In der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l zeigen nur 4 von 10 Präparaten Arrhythmien. Auch hier sind Extrasystolie und Spontanaktivität unregelmäßig verteilt, und es treten in 2 von 4 Fällen Bigemie-ähnliche Aktionspotentiale auf. Diese 2 Fälle lassen auch schwache TD erkennen.

In der hohen Calcium-Ionen-Konzentration von 7,2 mval/l sind trotz deutlich ausgeprägten diastolischen Oszillationen nur 3 von 10 Präparaten arrhythmisch. Zwei dieser Präparate zeigten dabei Bigeminie-ähnliche Aktionspotentiale mit vom Scheitel der TD abhebender Extrasystole.

Extrasystolie und/oder Spontanaktivität sind in niedriger und hoher Calcium-Konzentration signifikant seltener als in der mittelhohen ($p < 0,03$ bzw. $p < 0,005$).

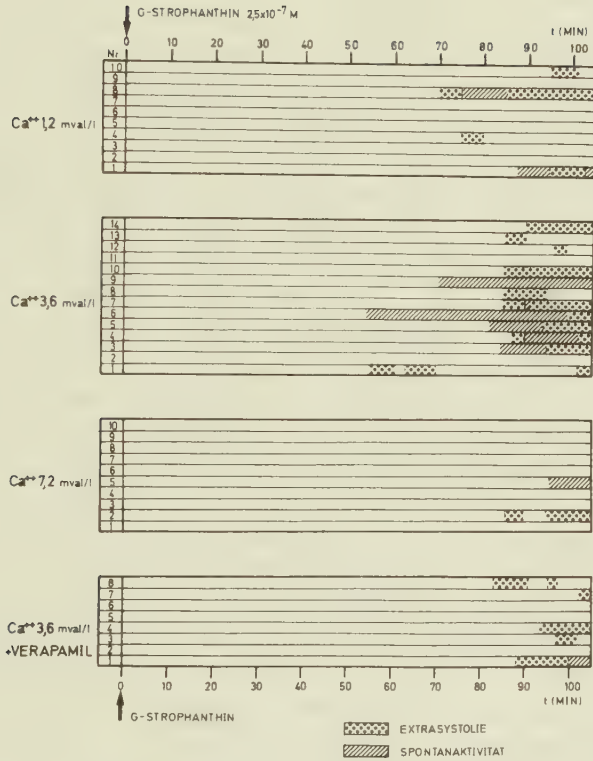


Abb.15: Auftreten von Extrasystolie und Spontanaktivität während der Perfusion mit g-Strophanthin bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und mit Verapamil

3.4. Diskussion

Durch zahlreiche Befunde ist belegt, daß eine Erhöhung der extrazellulären Kalium-Konzentration die Wirkung herzwirksamer Glykoside abschwächt (2, 31, 77, 86, 107). Hierfür wird sowohl ein direkter Effekt an der Zellmembran selbst, bestehend in einer Erhöhung der Kaliumpermeabilität, diskutiert (77, 107), als auch eine Interaktion der Kalium-Ionen mit dem Glykosid am Rezeptor, der sehr wahrscheinlich mit der Na^+ , K^+ -ATPase identisch ist (2, 31).

Im Schrifttum werden für in vitro Versuche am isolierten Purkinje Faden zum Teil sehr niedrige Kalium-Konzentrationen von 2,7 mval/l angegeben (20, 27, 49, 106) und zum Teil höhere Kalium-Konzentrationen in der Größenordnung von 4 bis 5 mval/l (34, 35, 42, 43, 58). Bezogen auf die von uns verwendete Kalium-Konzentration von 4,7 mval/l liegt die g-Strophanthin-Konzentration in unseren Experimenten mit $2,5 \times 10^{-7}\text{M}$ in einem für in vitro Experimente verhältnismäßig niedrigen Bereich. Im Schrifttum werden Ouabain-Konzentrationen zwischen 10^{-5} und 10^{-7}M angegeben.

Die Calcium-Konzentration unserer Inkubationslösung für Transport, Präparation, Aufbewahrung und Versuche in "mittelhoher" Calcium-Konzentration liegt mit 4,5 mval/l Gesamt-Calcium (3,6 mval/l Calcium-Ionen-Konzentration) in einer Größenordnung, wie sie im weitaus größten Teil der Literatur für Versuche an isolierten Erregungsleitungsge-
weben des Herzens angegeben werden (35, 49, 106, 111, 116). Beim Schaf beträgt jedoch der Wert für ionisiertes Calcium im Serum nur etwa 2 mval/l bei einer Calcium-Gesamtkonzentration von ca. 5 mval/l (eigene Messungen).

Im Vergleich hierzu ist bereits unsere Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l (4,5 mval/l Calcium-Gesamtkonzentration in der Perfusionslösung) ein Wert, den man bei Hypercalcämie antrifft.

Unsere niedrige Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l entspräche einer Hypocalcämie.

Die von uns unter g-Strophanthin (Ouabain) beobachteten Veränderungen am Aktionspotential des isolierten Purkinje Fadens stehen in guter Übereinstimmung mit den Ergebnissen

anderer Autoren (3, 27, 35, 58, 77, 87, 106, 108).

Bei elektrophysiologischen Studien *in vitro* mit Perfusion eines Purkinje Fadens mit dem Blut intakter, g-Strophanthin-behandelter Hunde, konnte mit Hilfe gleichzeitiger EKG-Ableitung zwischen einer frühen, "nicht toxischen" und einer anschließenden, "toxischen" Phase unterschieden werden (88). Dabei zeigte sich, daß die "nicht toxische" Phase der Verlängerungsperiode von Aktionspotentialdauer APD und effektiver Refraktärperiode ERP entspricht, in der sich die übrigen Parameter in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen nicht wesentlich verändern. Eine vom beschriebenen Verlauf etwas abweichende Entwicklung dieser frühen Phase finden wir allerdings in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mal/l bei AP, AP_{Na}, V_{max} und OS, also Parametern, die mit dem Aufstrich des Aktionspotentials in Beziehung stehen. Diese Parameter nehmen nämlich während der Verlängerungsphase der g-Strophanthinwirkung in der niedrigen Calcium-Konzentration stärker ab als in der höheren.

Da sich die genannten Parameter jedoch auch beim Kontrollkollektiv für niedriges Calcium (also ohne g-Strophanthin) in ihrer Mehrzahl ebenfalls stärker verkleinern als in den höheren Konzentrationen (3.2.), ist die gefundene stärkere Abnahme der Aufstrichphase des Aktionspotentials in der niedrigen Calcium-Konzentration mit g-Strophanthin auf den Calciummangel zurückzuführen, und ist nicht Ausdruck einer verstärkten Ouabainwirkung.

Vergleicht man also den Verlauf der Kontroll- und Versuchskollektive in den ersten 30 min der Perfusion mit Ouabain, so bestehen keine g-Strophanthin-bedingten Unterschiede zwischen den drei verwendeten Calcium-Ionen-Konzentrationen.

Im Anschluß an die Verlängerungsperiode treten in unseren Versuchskollektiven diejenigen Veränderungen auf, welche als charakteristisch für diese zweite, "toxische" Phase angesehen werden (88), nämlich eine Verkürzung der Aktionspotentialdauer und der effektiven Refraktärperiode, eine Depolarisation der Zelle mit Abnahme der Aktionspotentialhöhe und der Anstiegsgeschwindigkeit, sowie eine Zunahme der diastolischen Depolarisation, welche teilweise mit

diastolischen Oszillationen gekoppelt ist (3, 27, 35, 58, 77, 87, 106, 108).

Im folgenden sollen nun zuerst die möglichen Ursachen dieser Wirkungen des Ouabains auf das Aktionspotential dargestellt werden, um anschließend deren Modifizierung durch Calcium-Ionen, wie wir sie in unseren Versuchen nachweisen konnten, besser erörtern zu können.

Seit der Entdeckung, daß herzwirksame Glykoside den aktiven Natrium- und Kaliumtransport an der Erythrocytenmembran hemmen (94), hat sich das Wissen um den zugrunde liegenden Mechanismus dahingehend erweitert, daß die Hemmung eines von Mg^{++} und ATP abhängigen, durch Ca^{++} blockierbaren sowie durch Na^+ und K^+ aktivierbaren Transportenzyms angenommen wird (33, 99). Dieses Enzym der Zellmembran ist als Na^+ , K^+ -ATPase bekannt.

Eine Blockierung dieses Enzyms durch Glykoside hat eine Änderung der extra- und intrazellulären Ionen-Konzentration zur Folge. Diese wird sowohl für die therapeutischen als auch insbesondere für die toxischen Wirkungen der herzwirksamen Glykoside diskutiert (83, 90, 100, 106).

Eine Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase müßte eine Abnahme der intrazellulären und/oder eine Zunahme der extrazellulären Kalium-Konzentration mit entsprechender Abnahme des Verhältnisses $(K^+)_i / (K^+)_e$ verursachen. Gleichzeitig sollte die intrazelluläre Natrium-Konzentration und somit das Verhältnis $(Na^+)_i / (Na^+)_e$ zunehmen:

Untersuchungen des Kalium-Austausches bestätigten für "toxische" Ouabain-Konzentrationen übereinstimmend diese Erwartungen (14, 65, 66, 69, 77, 83), während bei "therapeutischen" Ouabain-Konzentrationen auch unveränderte, ja sogar erhöhte intrazelluläre Kalium-Konzentrationen gemessen wurden (69, 105).

Ionen-Austauschstudien am Myocard mit $^{24}Na^+$ bestätigten andererseits für toxische Glykosid-Konzentrationen die Akkumulation von Na^+ in der Zelle (15, 65, 66).

Ferner wurde mit $^{45}Ca^{++}$ eine Zunahme der zellulären Calcium-Aufnahme bzw. des freien Calcium-Gehalts der Zellen bei Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase durch Ouabain festgestellt (41, 66, 69).

Es spricht vieles dafür, daß der Calcium-Transport aus der Zelle eng mit dem Natrium-Transport verknüpft ist in dem Sinne, daß eine Abnahme des extrazellulären bzw. eine relative Zunahme des intrazellulären Natrium-Gehalts zu einem Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration führt (6, 65, 66, 84, 85).

Allerdings besteht eine Übereinstimmung hinsichtlich der Zunahme der intrazellulären Na^+ - und Ca^{++} -Konzentration nur für die Zeit, in der bereits toxische Effekte der herzwirksamen Glykoside auftreten.

Im sogenannten therapeutischen Bereich, wo nur positiv inotrope Wirkungen bemerkbar sind, werden zum Teil keine, zum Teil sogar entgegengesetzte Veränderungen der Na^+ - und Ca^{++} -Konzentration beschrieben (69).

Eine Abnahme der intrazellulären Kalium- und eine Zunahme der intrazellulären Natrium- und Calcium-Konzentration gilt somit nur im toxischen Stadium der g-Strophanthinwirkung als gesichert. In diesem toxischen Stadium, welches der Verkürzungsphase des Aktionspotentials entspricht (88), sind die nachgewiesenen Veränderungen der K^+ -, Na^+ - und Ca^{++} -Konzentration für die Wirkungen des g-Strophanthins zumindest mitverantwortlich. Dabei hat nach unseren Ergebnissen die jeweils vorliegende extrazelluläre Calcium-Ionen-Konzentration einen stark modifizierenden Einfluß auf die Wirkungen des Ouabains.

In der Verkürzungsphase verändert g-Strophanthin nämlich fast alle gemessenen Parameter in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration signifikant geringer als in den beiden höheren Calcium-Konzentrationen (Tab. 13).

Eine bei erhöhtem Calcium nachgewiesene verstärkte Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase durch g-Strophanthin (32, 103) dürfte einen wichtigen Faktor für die Verstärkung der g-Strophanthinwirkung durch Calcium-Ionen darstellen.

Jedoch sind auch direkte, die Toxizität des Ouabains fördernde Wirkungen von Calcium auf die Ionen-Verteilung und Ionen-Permeabilität an der Zellmembran wahrscheinlich:

Die Abnahme des maximalen diastolischen Potentials (MDP) durch g-Strophanthin wird auf die Reduktion des transmem-

branen K^+ -Gradienten durch Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase mit daraus resultierender relativer Verstärkung des Leckstroms aus Na^+ und Ca^{++} zurückgeführt (58, 90, 106). Ouabain hemmt ferner den für die diastolische Depolarisation und zum Teil auch für das MDP verantwortlichen langsamen Kalium-Auswärtsstrom i_{K2} (5). Beides begünstigt eine Depolarisation der Zelle, da der einwärts gerichtete Hintergrundstrom aus Na^+ und Ca^{++} relativ zunimmt.

Bei erhöhter extrazellulärer Calcium-Ionen-Konzentration kann sich wegen des größeren transmembranen Calcium-Gradienten dieser Hintergrundstrom weiter vergrößern und dadurch die von uns beobachtete stärkere Depolarisation der Zelle verursachen.

Das Take off potential (TOP) wird bestimmt vom Verhalten des MDP und von der diastolischen Depolarisation (s.u.), sodaß sich seine Besprechung aus der Diskussion dieser beiden Parameter ergibt.

Als Parameter der schnellen Aufstrichphase des Aktionspotentials (Phase 0) wurden in unseren Versuchen die maximale Anstiegsgeschwindigkeit V_{max} , der Overshoot OS und die Anstiegssamplitude des Aktionspotentials AP_{Na} gemessen. Die Abnahme der V_{max} bei g-Strophanthin-Exposition ist auf zweierlei Weise bedingt: Zum einen nimmt sie auf Grund der s-förmigen Beziehung zwischen Membranpotential und V_{max} mit zunehmender Depolarisation des TOP ab (112), zum anderen bewirkt Ouabain eine Verschiebung dieser s-förmigen Beziehung nach rechts (58), sodaß bei gleichem Membranpotential die V_{max} kleiner ist.

Die stärkere Verkleinerung der V_{max} durch g-Strophanthin in erhöhten Calcium-Ionen-Konzentrationen läßt sich in unseren Experimenten auf die stärkere Depolarisation des TOP in den höheren Calcium-Konzentrationen zurückführen. Eine direkte hemmende Wirkung von Calcium auf die V_{max} ist nicht anzunehmen, da in entsprechenden Untersuchungen eine Vergrößerung der V_{max} durch Calcium gefunden wurde (48, 111).

Da die Abhängigkeit des Overshoots (OS) vom TOP weniger ausgeprägt ist als bei der V_{max} (112), und Calcium-Ionen den OS ebenso wie die V_{max} erhöhen (48), ist es nicht ver-

wunderlich, daß sich die verstärkte toxische Wirkung des Ouabains in erhöhten Calcium-Konzentrationen bei diesem Parameter nur andeutet.

Den gleichen Einflüssen wie die $V_{\max}$ und der OS dürfte auch die Anstiegsamplitude AP_{Na} unterliegen.

Der beobachtete biphasische Verlauf der Aktionspotentialdauer (APD) und der effektiven Refraktärperiode (ERP), nämlich zuerst eine Zunahme, dann eine Verkürzung dieser Parameter, stimmt mit den Befunden anderer Autoren überein (58, 77, 88). Als mögliche Mechanismen der in unseren Experimenten signifikanten Verlängerung der APD gelten:

- 1) Eine Zunahme des Membranwiderstandes bzw. eine Abnahme der Kalium-Leitfähigkeit (gezeigt durch intrazelluläre Applikation von Rechteckreizen (27) und Änderungen in der Steigung der Strom-Spannungskurve (58))
 - 2) Eine Erniedrigung des repolarisierenden K^+ -Auswärtsstroms als Folge der Abnahme des transmembranen Kalium-Gradienten (77)
 - 3) Eine vorübergehende Stimulation der Na^+ , K^+ -Pumpe, welche von einer Hyperpolarisation begleitet wird (19, 69)
 - 4) Die Hemmung einer elektrogenen Pumpe durch Ouabain (53)
- Mit unserer Methodik ist eine Entscheidung für eine dieser Hypothesen nicht möglich. Wir beobachteten allerdings nie die unter 3) angegebene Hyperpolarisation.

Da wir in unseren Experimenten bei den verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen im ansteigenden Teil der Verlängerungsphase keine Unterschiede finden, ist ein nennenswerter Einfluß von Calcium-Ionen auf diese Periode sehr unwahrscheinlich.

Im Gegensatz zur Verlängerungsphase ist jedoch die anschließende Verkürzungsphase des Aktionspotentials deutlich von der Calcium-Konzentration abhängig. Für die Abnahme der APD kann die Verringerung des transmembranen Natrium-Gradienten mit entsprechender Reduktion des Plateaustroms verantwortlich sein (77, 109) und/oder die beobachtete Zunahme der Kalium-Leitfähigkeit in diesem Stadium der g-Strophanthinwirkung (27, 58).

Bei Untersuchungen mit Hilfe der Spannungsklemme (voltage

clamp) konnte am Purkinje Faden des Kalbes nachgewiesen werden, daß eine Erhöhung der intrazellulären Calcium-Konzentration einen für die Repolarisation bedeutsamen Kalium-Auswärtsstrom (i_{K1}) verstärkt und dadurch zu einer Verkürzung der APD führt (56). Somit wäre die unterschiedliche Verkürzung der APD bei verschiedenen extrazellulären Calcium-Ionen-Konzentrationen über die bei toxischen Glykosid-Konzentrationen erwiesene Erhöhung des intrazellulären Ca^{++} bei Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase zu erklären (siehe oben; 6, 41, 66, 69, 84):

Erhöhtes extrazelluläres Calcium führt bei Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase zu einem rascheren Anstieg der intrazellulären Calcium-Konzentration, was eine raschere Zunahme des repolarisierenden Stromes i_{K1} zur Folge hat und dadurch zu einer rascheren Verkürzung der APD in höheren Calcium-Konzentrationen führt.

Es ist seit langem bekannt, daß toxische Effekte unter g-Strophanthin am Purkinje Faden wesentlich früher auftreten als am Herzmuskel und sich in Form von Arrhythmien äußern (106, 108). Von besonderer Bedeutung scheinen hierbei - neben der rascheren Abnahme von APD, ERP und V_{max} , welche Reentry-Mechanismen fördert - die Veränderungen der Diastole zu sein.

Grundsätzlich wird eine Zunahme der diastolischen Depolarisation am Purkinje Faden nach Zugabe von herzwirksamen Glykosiden beschrieben (22, 88, 90, 106). In neuerer Zeit wurden zusätzlich bei relativ hohem Membranpotential vorübergehende diastolische Oszillationen (transient depolarisations (TD), low amplitude potentials) am Erregungsleitungsgewebe von Vorhof und Ventrikel gefunden, deren Amplitude und Koppelungsintervall von der Reizfrequenz abhängt (22, 35, 87). Diese Oszillationen bei noch gut erhaltenem Membranpotential (< -65 mV) müssen von Oszillationen unterschieden werden, die an stärker depolarisierten Membranen auftreten und nicht gedämpft verlaufen (38, 44, 50, 87, 107).

Da bei uns das TOP bzw. MDP nie positiver als -65 mV wird, und die diastolischen Oszillationen gedämpft verlaufen, handelt es sich in unseren Experimenten um Oszillationen

bei hohem Membranpotential, also um TD.

Man muß somit bei den Potentialänderungen in der Diastole zwischen der

- 1) langsamen diastolischen Depolarisation und
- 2) einer diastolischen Oszillation bei relativ hohem Membranpotential (TD) unterscheiden.

Ad 1): Als erste Veränderung finden wir unter g-Strophanthineinwirkung eine Zunahme dieser langsamen diastolischen Depolarisation. Diese beruht wahrscheinlich auf einer allmählichen Abnahme der Kaliumpermeabilität (26) bzw. der Verringerung eines langsamen, auswärts gerichteten Kaliumstroms i_{K2} (5), verbunden mit einer relativen Zunahme des Hintergrundstroms aus Na^+ und Ca^{++} .

G-Strophanthin führt zu einer Verringerung dieses Schrittmacherstroms i_{K2} und damit zu einer Zunahme der diastolischen Depolarisation (5).

Für die von uns beobachtete stärkere diastolische Depolarisation bei erhöhtem extrazellulärem Calcium könnte eine Verstärkung des korrespondierenden Hintergrundstroms aus Calcium-Ionen eine Rolle spielen. Mit fortschreitender Intoxikation geht die dargestellte langsame diastolische Depolarisation bei einem Großteil der Ableitungen in TD über.

Ad 2): Für die TD kann prinzipiell eine vorübergehende Abnahme der Kaliumpermeabilität oder ein vorübergehender Na^+ und/oder Ca^{++} -Einstrom in die Zelle verantwortlich sein.

Da gezeigt werden konnte, daß eine Erhöhung der extrazellulären Calcium-Konzentration bei bereits bestehender Glykosidintoxikation die Entstehung von TD begünstigt (34), und der Calcium-Blocker Verapamil deren Amplitude verringern kann (63, 89), ist am ehesten ein vorwiegender Calcium-Einstrom anzunehmen. Voltage clamp Untersuchungen sprechen gegen die Beteiligung eines Na^+ -Stroms und weisen auf einen Ca^{++} -Strom hin, der eventuell durch intrazellulären Anstieg des Calciums begünstigt wird (67).

Unsere Versuche mit selten auftretenden und sehr gering ausgeprägten TD in niedriger Calcium-Konzentration und häufig und in deutlicher Ausprägung erscheinenden TD in den beiden höheren Konzentrationen sprechen gleichfalls für eine Beteiligung von Calcium-Ionen an der Verstärkung von TD bei Perfusion mit g-Strophanthin.

Beide oben beschriebenen depolarisierenden Vorgänge der Diastole können für Arrhythmien bei g-Strophanthin-Intoxikation verantwortlich sein. Den TD scheint hierbei jedoch eine besondere Bedeutung zuzukommen, weil sie durch ihre weitgehende Depolarisation dem Schwellenpotential am nächsten kommen und in unseren Experimenten unabhängig vom externen Reiz auftretende Aktionspotentiale meist in enger Beziehung zum Scheitel der TD stehen.

In der mittelhohen Calcium-Konzentration (3,6 mval/l), wo die TD zwar ausgeprägt sind, das Schwellenpotential aber noch bei negativeren Werten liegt als in der hohen Calcium-Konzentration (Calcium-Ionen verschieben das Schwellenpotential zu positiveren Werten (111)), konnten wir in vier Fällen eine echte ektope Schrittmacheraktivität mit rundem Übergang der TD in den Aufstrich des nachfolgenden Aktionspotentials nachweisen.

In der größeren Zahl von Fällen finden wir jedoch keine echte Schrittmacheraktivität. Dort liegt entweder die Schrittmacherzelle abseits der ableitenden Elektrode, oder ein Mikro-Reentry-Mechanismus ist verantwortlich. Dieser würde ebenfalls die enge Beziehung der Extrasystolen zu den TD erklären können, da TD in der Lage sind, die Fortleitung von Aktionspotentialen zu blockieren (93).

Beide Mechanismen, d.h. echte Schrittmacheraktivität und Reentry sind bei den von uns verwendeten langen (10-20 mm) Purkinje Fäden denkbar.

Belegbar ist durch unsere Versuche jedoch nur der erstere Fall, nämlich daß echte Schrittmacheraktivität in erhöhter Calcium-Ionen-Konzentration gehäuft aus TD hervorgeht und an Bigeminie erinnernde Phänomene verursachen kann.

Eine Reentry-Mechanismus würde durch die unter Ouabain beobachtete starke Abnahme der Refraktärzeit und die Ver-

ringierung der Leitungsgeschwindigkeit auf Grund der Abnahme von $V_{\max}$ begünstigt werden (4). Dies würde ebenfalls das häufigere Erscheinen von irregulären Aktionspotentialen bei mäßig erhöhter Calcium-Ionen-Konzentration erklären und ebenfalls Bigeminie-ähnliche Phänomene begünstigen (21).

Während somit echte Schrittmacheraktivität von uns nachgewiesen werden konnte, kann ein Reentry-Mechanismus keineswegs ausgeschlossen werden.

Bei der Intoxikation mit herzwirksamen Glykosiden in vivo spielen unter den ventrikulären Rhythmusstörungen die (paroxysmale) ventrikuläre Tachycardie, und besonders ventrikuläre Extrasystolen vom Bigeminustyp eine wichtige Rolle (18, 51, 86, 95).

Ferner wird in einer klinischen Studie beschrieben, daß Digitalis-bedingte Bigeminie charakteristischerweise bei erhöhter Calcium-Konzentration im Serum auftritt, und die zweite Systole ventrikulären Ursprungs ist (30).

Unsere Versuchsergebnisse können als Erklärung für ein derartig gehäuftes Auftreten von Bigeminie bei Hypercalcämie gelten: Bei mäßig erhöhter extrazellulärer Calcium-Ionen-Konzentration (hier 3,6 mval/l) bewirkt eine g-Strophanthin-Intoxikation, daß auf einen regulären externen Reiz (entsprechend dem Sinusrhythmus) eine Extrasystole folgt, welche (entsprechend der ventrikulären Extrasystole) im Purkinje Faden entsteht und durch den kontinuierlichen Übergang einer diastolischen Oszillation in den Aufstrich der Extrasystole ausgelöst wird.

Wie Abb.14 zeigt, überholt dabei die diastolische Oszillation den nachfolgenden regulären Reiz und führt dadurch zur Bigeminie, daß die der Extrasystole nachfolgende Oszillation das Schwellenpotential nicht mehr erreicht.

Würde auch diese Oszillation das Schwellenpotential erreichen, so würde das eine in unseren Versuchen ebenfalls gefundene Spontanaktivität auf der Basis echter Schrittmacheraktivität auslösen (entsprechend einer ventrikulären Tachycardie).

Bisher wurde erörtert, wie Calcium-Ionen die in unseren Experimenten beobachtete Verstärkung der g-Strophanthinwirkung verursachen können.

Angesichts dieses Synergismus von Calcium-Ionen und g-Strophanthin ist überraschend, daß eine Erhöhung der extrazellulären Calcium-Ionen-Konzentration um 100% von 3,6 auf 7,2 mval/l die Wirkungen des Ouabains nicht weiter verstärkt, sondern bei allen Parametern eher abschwächt. Besonders deutlich ist dies beim MDP, AP, AP_{Na} , V_{max} und OS, sowie hinsichtlich des Auftretens von Extrasystolie und Spontanaktivität. Bei diesen Parametern lassen sich in der hohen Calcium-Konzentration keine Unterschiede gegenüber der niedrigen nachweisen, während (mit Ausnahme des MDP) gegenüber der mittleren Calcium-Konzentration statistisch signifikant schwächere Wirkungen von g-Strophanthin bestehen. Dieser unterschiedliche Verlauf zwischen der hohen und mittleren Calcium-Ionen-Konzentration bezieht sich somit vor allem auf die Parameter der Aufstrichphase (Phase 0) des Aktionspotentials.

Aber auch bei Parametern, bei denen sich eine Abschwächung der Effekte durch hohes Calcium statistisch nicht nachweisen läßt, ist doch auffällig, daß die g-Strophanthinwirkung in hoher Calcium-Konzentration gegenüber der mittleren niemals verstärkt, sondern bei all diesen Parametern ebenfalls eher abgeschwächt ist.

Dieser von uns gefundene antagonistische Effekt von Calcium-Ionen in hoher Konzentration auf die Wirkungen des g-Strophanthins betrifft somit - wenn auch in unterschiedlicher Ausprägung - alle gemessenen Parameter.

Eine derartige Beeinflussung der Toxizität des Ouabains durch hohes Calcium wurde unseres Wissens bisher noch nicht beschrieben und stellt demnach ein neues Resultat dar.

Für die beobachteten, die g-Strophanthinwirkung antagonisierenden Effekte des Calciums sind zwei prinzipiell unterschiedliche Möglichkeiten zu diskutieren:

- 1) Calcium-Ionen verhindern in hoher Konzentration die Hemmung der Na^+, K^+ -ATPase durch Ouabain.
- 2) Hohe Calcium-Ionen-Konzentrationen haben von der Na^+, K^+ -

ATPase unabhängige antagonistische Wirkungen an der Zellmembran.

Ad 1): Unseres Wissens konnte nur in Bereichen sehr kleiner Calcium-Gesamt-Konzentrationen ($< 0,5$ mM) eine Aktivierung der durch Ouabain hemmbaren Na^+, K^+ -ATPase durch Calcium nachgewiesen werden (29).

In höheren Konzentrationsbereichen wird übereinstimmend eine Hemmung dieses Enzyms durch Calcium und/oder g-Strophanthin beschrieben (29, 32, 99, 103):

Biochemische Untersuchungen der Na^+, K^+ -ATPase-Aktivität haben gezeigt, daß mit steigender Calcium-Konzentration die Aktivität dieses Enzyms in s-förmigem Verlauf abnimmt (103). Dabei liegt unsere Vergrößerung der Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 auf 3,6 mval/l im steilen Bereich der Kurve, d.h. die Aktivität der Na^+, K^+ -ATPase nimmt stark ab, während eine weitere Erhöhung des Calciums von 3,6 auf 7,2 mval/l in den flacheren Teil der Kurve fällt, das Enzym also nur wenig stärker gehemmt wird.

Weiterhin konnte in ^3H -Ouabain-Bindungsstudien gezeigt werden, daß auch hier im niedrigen Calcium-Bereich die Dissoziationskonstante mit steigender Calcium-Konzentration zunächst sehr rasch, dann zunehmend langsamer abnimmt und ab Calcium-Werten von 8 bis 10 mval/l annähernd konstant bleibt (32). Dies bedeutet auf unsere Konzentrationen übertragen, daß alle diese Untersuchungen beim Übergang von der niedrigen (1,2 mval/l) auf die mittlere (3,6 mval/l) Calcium-Ionen-Konzentration eine starke, beim Übergang von der mittleren zur hohen (7,2 mval/l) aber nur eine geringfügige Zunahme der Hemmung der Na^+, K^+ -ATPase erwarten lassen. Der von uns gefundene, die g-Strophanthinwirkung antagonisierende Effekt hoher Calcium-Ionen-Konzentrationen kann also nach den bisher bekannten Forschungsergebnissen nicht auf einer entsprechenden Beeinflussung der Na^+, K^+ -ATPase beruhen.

Ad 2): Es scheint also andere Calcium-abhängige antagonistische Mechanismen zu geben, welche erst in hohen Calcium-Konzentrationen bemerkbar werden.

Diese antagonistischen Effekte des Calcium kommen unserer

Meinung nach deshalb erst beim Übergang von der mittleren zur hohen Calcium-Ionen-Konzentration zum Tragen, weil in diesem Konzentrationsbereich Calcium-Ionen die hemmende Wirkung von g-Strophanthin auf die Na^+, K^+ -ATPase nur noch geringfügig verstärken (flacher Bereich der Aktivitätskurve), sodaß die antagonistischen Wirkungen von Calcium relativ stärker zunehmen und dadurch in Erscheinung treten. In diesem Zusammenhang ist auch von Bedeutung, daß wir die Calcium-Konzentration v o r g-Strophanthin-Applikation variieren, sodaß sich der unterschiedliche Calcium-Gehalt nach einer Äquilibrationszeit auf die Entwicklung der Intoxikation auswirken kann. Bei Variation des Calciums bei bereits bestehender Intoxikation würden gering ausgeprägte Wirkungen von Calcium-Ionen (wie die aufgezeigten antagonistischen Effekte) durch die permanent fortschreitende Intoxikation überdeckt werden, da unter Ouabain kein steady state erreichbar ist.

Eine mögliche Erklärung für die antagonistischen Wirkungen von Calcium läßt sich aus Versuchen ableiten, in denen gezeigt wurde, daß Calcium die Aufnahme von herzwirksamen Glykosiden (Digoxin, Digitoxin) in das Zellinnere hemmt (37). Dieser Effekt von Calcium wirkt sich nach denselben Untersuchern jedoch im uns interessierenden Konzentrationsbereich zwischen der mittleren und hohen Calcium-Konzentration kaum aus. Hinzu kommt, daß herzwirksame Glykoside nicht intrazellulär, sondern an der Außenseite der Zellmembran angreifen (17, 31), sodaß ihre Wirkung von der intrazellulären Konzentration unabhängig ist.

Aus diesen Gründen ist die Hemmung der zellulären Aufnahme herzwirksamer Glykoside durch Calcium höchstwahrscheinlich bedeutungslos für die gefundenen antagonistischen Effekte von Calcium.

Von Bedeutung ist hingegen eine Verschiebung des Schwellenpotentials zu positiveren Werten durch hohe Calcium-Konzentration (sogenannter Membran-stabilisierender Effekt) (111), welche eventuell auf eine Veränderung der Membranladung zurückzuführen ist (6). Diese Verschiebung des

Schwellenpotentials hat zur Folge, daß die Zellen stärker depolarisieren bzw. die diastolische Depolarisation im hohen Calcium umfangreicher sein muß um gleich häufig wie in niedrigeren Konzentrationen zu spontan auftretenden Aktionspotentialen zu führen.

In unseren Experimenten findet sich jedoch in der hohen Calcium-Ionen-Konzentration ein bei gleichen bzw. negativeren Werten liegendes Membranpotential mit geringerer diastolischer Depolarisation als im mittleren Calcium.

Bei alleiniger Variation der Calcium-Konzentration, d.h. ohne Perfusion mit *g*-Strophanthin, fanden andere Autoren hinsichtlich der diastolischen Depolarisation und der Spontanaktivität ähnliche Wirkungen hoher Calcium-Konzentrationen. So konnte an spontanaktiven Purkinje Fäden eine hemmende Wirkung von Calcium auf die Frequenz gefunden werden (34, 111). Auch am isolierten Vorhof verschiedener Spezies wurde mit zunehmender Calcium-Konzentration nach vorübergehender Steigerung in hoher Konzentration schließlich eine Abnahme der Schlagfrequenz beobachtet (97).

Am (durch depolarisierende Ströme) spontanaktiv gemachten Papillarmuskel, welcher Ähnlichkeit mit dem Verhalten eines Purkinje Fadens haben soll, wurde gezeigt, daß durch Calcium-Gesamt-Konzentrationen von über 7,2 mval/l (!) eine Hemmung der diastolischen Depolarisation mit Abnahme der Schlagfrequenz möglich ist (59).

Calcium verstärkt also einerseits die diastolische Depolarisation und Spontanaktivität, kann sie aber andererseits bei relativ hohen Konzentrationen wieder hemmen (34, 59, 97, 102, 111).

Unsere Ergebnisse in der hohen Calcium-Ionen-Konzentration von 7,2 mval/l, wo die TD unter *g*-Strophanthin eher geringer ausgeprägt sind als in der von 3,6 mval/l, stehen allerdings scheinbar im Widerspruch zu der einzigen uns bekannten Arbeit über die Interaktion von Calcium und Acetyl-strophanthidin auf diastolische Oszillationen (34).

In dieser Arbeit wird die Calcium-Konzentration bei bereits bestehenden TD variiert, was wegen der Wahrscheinlichkeit einer Abhängigkeit der TD von Calciumeinstrom (34, 63, 67, 89) über die dadurch entstehende rasche Änderung des

transmembranen Calciumgradienten die stetige Zunahme der TD mit plötzlich steigender extrazellulärer Calcium-Konzentration erklärt.

In unseren Versuchen jedoch haben die Präparate über mehr als eine Stunde lang Zeit, sich vor der Zugabe des Glykosids mit der Perfusionslösung zu äquilibrieren. Dadurch kann sich noch vor Zugabe des Ouabains der Calcium-Gradient verringert haben, da die intrazelluläre Calcium-Konzentration ansteigt. Letzteres erhöht - wie durch verschiedene Versuche gezeigt werden konnte - die Kaliumpermeabilität (P_K) der Zellmembran: Die intrazelluläre Injektion von Calcium führt bei *Helix aspera* Neuronen zu einem Abfall des Membranwiderstandes und zu Hyperpolarisation (75). Dies läßt auf eine Zunahme der P_K schließen. Auch am quergestreiften Muskel wurden entsprechende Beobachtungen gemacht (40, 50).

Versuche am Ventrikelmuskel und am isolierten Purkinje Faden mit Veränderung der intrazellulären Calcium-Konzentration durch Variation des Quotienten $(Ca^{++})_e / (Na^+)_e$ oder Mikroiontophorese von Calcium-Ionen deuten ebenfalls auf eine Erhöhung der P_K durch Calcium hin (52, 59, 73).

Diese Calcium-bedingte Zunahme der P_K hat dem erhöhten Calcium-Gradienten entgegenwirkende Effekte und könnte eine Verstärkung sowohl der langsamen diastolischen Depolarisation als auch der TD unter g-Strophanthin beim Übergang von der mittleren zur hohen Calcium-Ionen-Konzentration verhindern. Dies entspräche unseren Versuchsergebnissen. Analoge Einflüsse erhöhter P_K auf die g-Strophanthinwirkung konnten auch Experimente aufdecken, in denen durch Erhöhung der P_K mittels Steigerung der extrazellulären Kalium-Konzentration sowohl die Ouabain-bedingte langsame diastolische Depolarisation als auch diastolische Oszillationen (TD) verringert wurden (34, 107).

Eine Erhöhung der Kaliumpermeabilität durch hohes Calcium könnte auch erklären, warum sich das MDP und das TOP hinsichtlich ihres Verlaufs in der mittleren und hohen Calcium-Konzentration bei Perfusion mit g-Strophanthin nur wenig unterscheiden.

Bei Berücksichtigung dieses fehlenden Unterschiedes von MDP und TOP zwischen den beiden höheren Calcium-Ionen-

Konzentration fällt auf, daß die relativ stark vom TOP beeinflussten Parameter (112) der schnellen Auftriebsphase des Aktionspotentials (AP , AP_{Na} , V_{max} , OS) dennoch deutlich unterschiedlich verlaufen, d.h. im hohen Calcium unter g -Strophanthineinwirkung signifikant weniger abnehmen als im mittelhohen.

Dies deutet darauf hin, daß bei hoher vorgegebener Calcium-Ionen-Konzentration neben der oben diskutierten Erhöhung der P_K und der Verschiebung des Schwellenpotentials noch andere, dem g -Strophanthin-Effekt entgegenwirkende Mechanismen am schnellen Natriumkanal (Phase 0) eine Rolle spielen:

Bei fortgeschrittener Ouabain-Intoxikation ist am isolierten Purkinje Faden die Beziehung der maximalen Anstiegs geschwindigkeit des Aktionspotentials (V_{max}) zum Membranpotential (s -förmige Kurve) nach rechts verschoben, d.h. bei gleichem TOP ist die V_{max} kleiner (27, 58).

Calcium-Ionen in hoher Konzentration haben einen gegenteiligen Effekt und bewirken bei gleichem TOP eine größere V_{max} , d.h. eine Linksverschiebung (48, 111).

Bei großen TOP Werten - wie in den vorliegenden Experimenten zwischen $t = 0$ und 30 min nach Ouabain-Zugabe - sind die Unterschiede wegen des s -förmigen Kurvenverlaufs minimal. Erst bei Depolarisation, wenn das Verhältnis $\Delta V_{max}/\Delta V$ sehr groß wird (steiler Bereich der Kurve), treten die Unterschiede stärker hervor und erklären die von uns beobachtete geringere Abnahme der V_{max} im hohen Calcium während der Perfusion mit g -Strophanthin.

Ähnlich wie die V_{max} steht auch der OS in s -förmiger Beziehung zum TOP (48). Calcium fördert den OS im Sinne einer Linksverschiebung und läßt die unterschiedliche Entwicklung des OS in der mittleren und hohen Calcium-Ionen-Konzentration wegen des s -förmigen Kurvenverlaufs ebenfalls erst bei stärkerer Depolarisation deutlich werden.

Entsprechende Kurven hinsichtlich der AP und der AP_{Na} liegen nicht vor. Aber bei der engen Verknüpfung dieser Parameter mit der V_{max} und dem OS ist wohl ein ähnlicher Verlauf anzunehmen.

Die im Schrifttum zum Teil widersprüchlichen Angaben über die Modifizierung der Digitaliswirkungen durch Calcium (siehe Einleitung) können mehrere Ursachen haben:

- 1) Bei Versuchen in vivo wurde die Calcium-Ionen-Konzentration nicht gemessen und somit das biologisch wirksame Calcium nicht erfaßt. Wegen möglicher Mechanismen der Gegenregulation und wegen der Abhängigkeit der Calcium-Ionen-Konzentration von zahlreichen Faktoren wie pH, Proteinbindung, Bindung an Phosphat und Sulfat, ist ein Rückschluß von der Calcium-Gesamt-Konzentration auf die wirksame Calcium-Ionen-Konzentration nicht möglich, und ein Vergleich verschiedener Experimente nur mit wesentlichen Einschränkungen durchführbar.
- 2) Versuche mit sehr hohen Calcium-Gesamtkonzentrationen ($> 20 \text{ mval/l}$) können bereits im Bereich toxischer Eigenwirkungen des Calciums liegen (82).
- 3) Die von uns nachgewiesenen antagonistischen Effekte des Calciums schwächen die Toxizität herzwirksamer Glykoside bei hohen Calcium-Ionen-Konzentrationen wieder ab, sodaß in bestimmten Konzentrationsbereichen eventuell keine Nettoeffekte gefunden werden.

Aus diesen Gründen ist es empfehlenswert, bei entsprechenden Fragestellungen immer den ionisierten Anteil der Calcium-Konzentration zu bestimmen, um unter exakt definierten Bedingungen vergleichbare Aussagen über den Einfluß von Calcium machen zu können.

4. VERAPAMIL UND G-STROPHANTHIN

Für Untersuchungen der Interaktion von Calcium-Ionen und g-Strophanthin ist auch von Interesse, wie der Calcium-Antagonist (10, 11, 20, 63, 64, 91) Verapamil die Wirkungen des g-Strophanthins modifiziert.

Für entsprechende Untersuchungen verwenden wir immer Perfusionslösungen mit der mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l und einer Verapamil-Konzentration von 1,25 mg/l entsprechend $2,5 \times 10^{-6}$ M.

4.1. Kontrollkollektive (ohne g-Strophanthin)

Analog zu den Versuchen mit verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen (3.) geben wir erst nach einer Äquilibra-tionszeit von etwa 90 min Verapamil in das Vorratsgefäß des Ernährungskreislaufes. Dieser Zeitpunkt der Zugabe des Verapamils wird als $t = -30$ min bezeichnet und bezieht sich auf die 30 min später vorgenommene Applikation von g-Strophanthin in den Versuchskollektiven, welche den Zeitpunkt $t = 0$ min definiert. Hierdurch ist die zeitliche Parallelität zwischen Kontroll- und Versuchskollektiv gewährleistet.

Für das Kontrollkollektiv mit Verapamil werden 8 Ableitungen aus 5 Präparaten verwendet.

Die in den Abbildungen zum besseren Vergleich mit angeführten Kollektive für niedrige und mittlere Calcium-Ionen-Konzentrationen wurden an anderer Stelle dieser Arbeit bereits ausführlich dargestellt (3.). Wir beschränken uns deshalb im folgenden auf eine Beschreibung des Kontrollkollektivs mit Verapamil und zwar besonders auf eine Darstellung vom Zeitpunkt $t = 0$ min ab, da die Verapamil-Wirkung zwischen $t = -30$ und 0 min an anderer Stelle (4.3.) noch ausführlich erörtert werden wird.

Abb. 19a zeigt typische, Verapamil-bedingte Veränderungen des Aktionspotentials in Abhängigkeit von der Expositionszeit. Neben der deutlichen Abnahme des Notch'es und einer auffälligen Verschiebung des Plateaus zu negativeren Potentialwerten sind die Veränderungen der gemessenen Aktions-

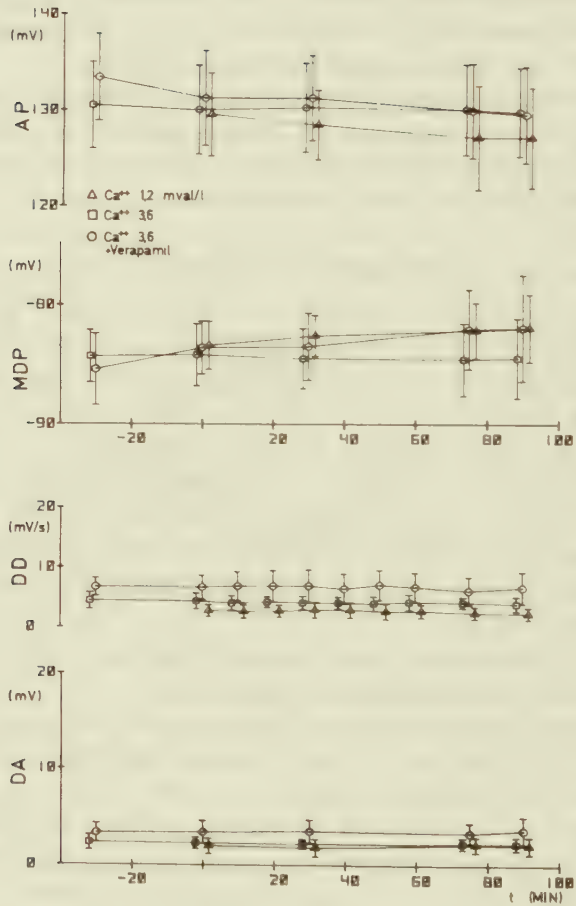


Abb.16: Verlauf von diastolischer Amplitude (DA), maximaler diastolischer Depolarisationsgeschwindigkeit (DD), maximalem diastolischem Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP) unter Kontrollbedingungen mit verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und mit Verapamil ($2,5 \times 10^{-6} M$)

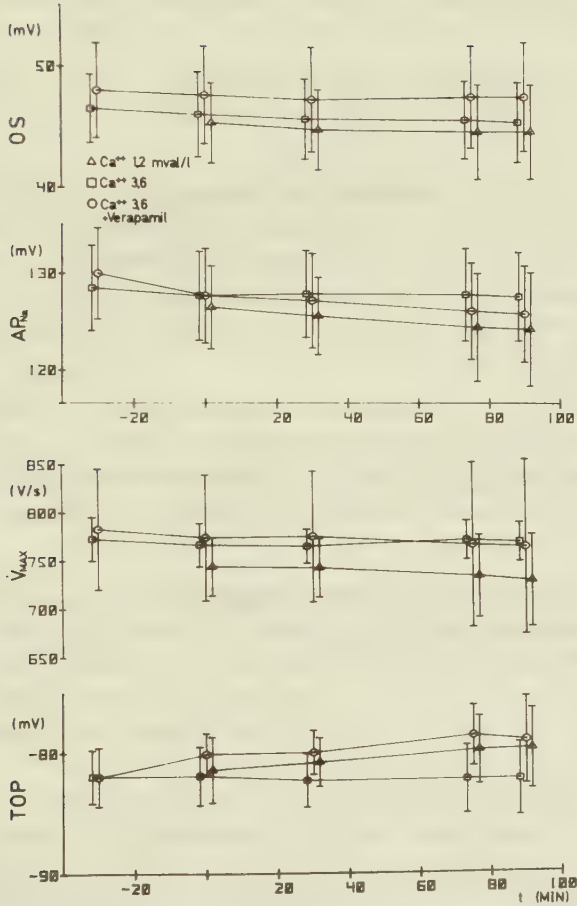


Abb.17: Verlauf von Take off Potential (TOP), maximaler Anstiegsgeschwindigkeit (V_{max}), Anstiegsamplitude (AP_{Na}) und Overshoot (OS) unter Kontrollbedingungen mit verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und mit Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}M$)

potentialparameter relativ geringfügig:

In der Zeit zwischen $t = 0$ und 90 min verursacht Verapamil (ohne g-Strophanthin) eine geringfügige Depolarisation des maximalen diastolischen Potentials (MDP) (Abb.16) von $-83,6 \pm 2,2$ mV ($t = 0$ min) auf $-82 \pm 4,4$ mV ($t = 90$ min).

Die Aktionspotentialamplitude (AP) (Abb.16) nimmt in der-
delben Zeit ebenfalls kaum merklich von $131,2 \pm 4,9$ auf $129,5 \pm 5$ mV ab.

Die maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD) (Abb.16) und die diastolische Amplitude (DA) (Abb.16) wer-
den von Verapamil zu keiner Zeit beeinflusst und bleiben
zwischen $t = 0$ und 90 min konstant mit $6,6 \pm 2$ bzw. $6,9 \pm$
 $2,6$ mV/s hinsichtlich der DD und $3,4 \pm 1,2$ bzw. $3,7 \pm 1,4$ mV
bezüglich der DA.

Da sich die diastolische Depolarisation, charakterisiert
durch DD und DA nicht verändert, verhält sich das Take off
Potential (TOP) (Abb.17) verständlicherweise parallel zum
MDP. Es depolarisiert fast unmerklich von $-80,1 \pm 1,7$ auf
 $-79,1 \pm 3,6$ mV.

Die maximale Anstiegsgeschwindigkeit ($V_{\max}$) und die An-
stiegsamplitude (AP_{Na}) (Abb.17) verhalten sich gemäß ihrer
Abhängigkeit vom Ausgangspotential analog zum TOP. Die
 AP_{Na} nimmt von $127,7 \pm 4,9$ mV ($t = 0$ min) geringfügig auf
 $125,8 \pm 5$ mV ($t = 90$ min) ab. Ebenso verringert sich die
 $V_{\max}$ von $772,5 \pm 65$ V/s auf 760 ± 90 V/s.

Der Overshoot (OS) (Abb.17) verändert sich zwischen $t = 0$
und 90 min nicht ($47,6 \pm 4$ und $47,4 \pm 4,5$ mV).

Die Aktionspotentialdauer (APD) sowie die effektive Re-
fraktärperiode (ERP) (Abb.18) entwickeln sich im beobach-
teten Zeitraum annähernd parallel zueinander.

Zwischen $t = -30$ und 0 min finden wir während der Perfu-
sion mit Verapamil keine Veränderung dieser beiden Para-
meter. Im daran anschließenden Zeitraum jedoch verlängern
sich APD und ERP langsam aber stetig bis $t = 90$ min von
 $312 \pm 53,7$ auf 324 ± 67 ms (APD) sowie von $316,9 \pm 43$ auf
 324 ± 50 ms (ERP).

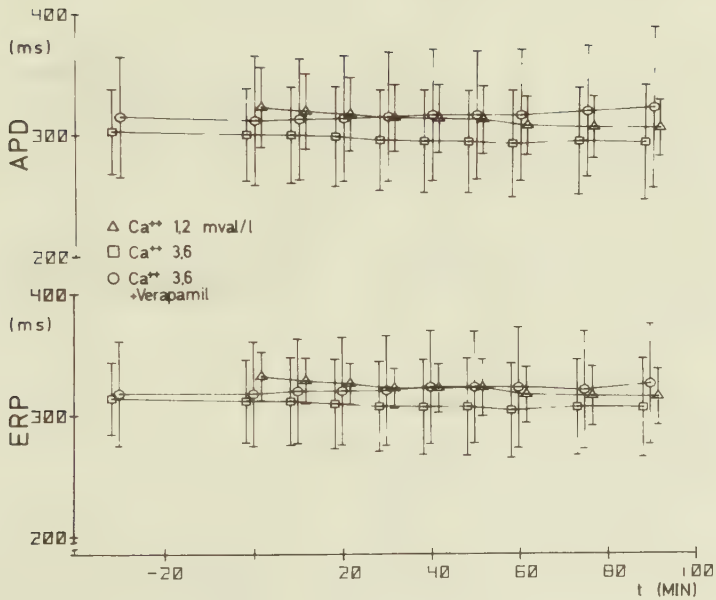


Abb.18: Verlauf der Aktionspotentialdauer (APD) und der effektiven Refraktärperiode (ERP) unter Kontrollbedingungen mit verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und mit Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}\text{M}$)

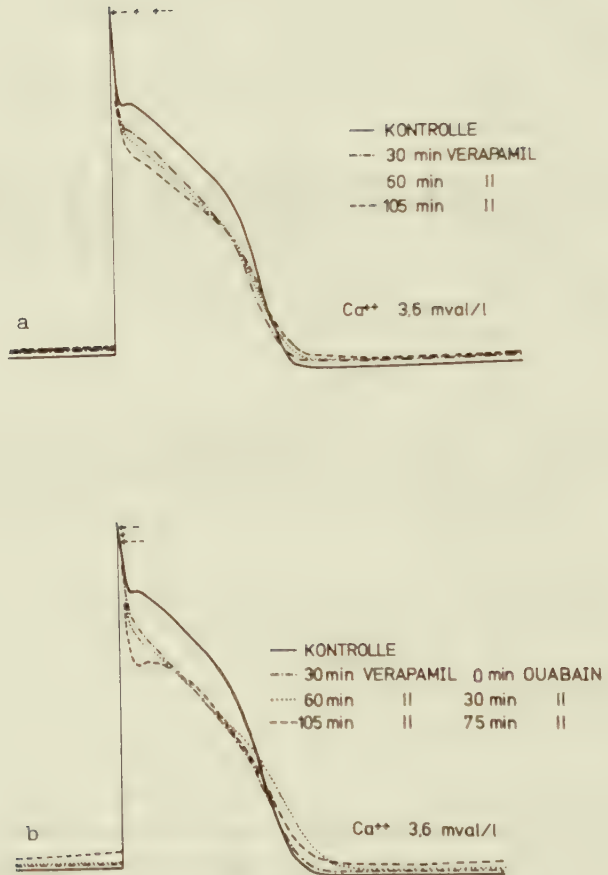


Abb.19: Charakteristische Veränderungen von Aktionspotentialen durch Verapamil ($2,5 \times 10^{-6} \text{ M}$) (a) sowie durch Verapamil ($2,5 \times 10^{-6} \text{ M}$) und g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{ M}$) (b)

Zusammenfassend ist festzustellen, daß Verapamil die beobachteten Parameter zwischen $t = 0$ und 90 min nicht oder nur geringfügig verändert. Dabei ist auffallend, daß in dieser Zeit alle Parameter außer der APD und ERP fast völlig parallel zum Kontrollkollektiv mit der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l verlaufen.

4.2. Versuchskollektive (mit g-Strophanthin)

Diese Experimente werden wie unter 4.1. geschildert durchgeführt, jedoch wird nach 30 min Perfusion mit Verapamil g-Strophanthin bis zu einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-7} M$ zugegeben ($t = 0$ min).

Die Wirkung des Ouabains unter diesen Bedingungen werden mit den schon unter 3.3. besprochenen Versuchskollektiven mit niedriger (1,2 mval/l) und mittelhoher (3,6 mval/l) Calcium-Ionen-Konzentration (ohne Verapamil) verglichen. Aus Gründen der besseren Vergleichbarkeit mit diesen Versuchskollektiven werden im folgenden ebenfalls vor allem die g-Strophanthin-bedingten Veränderungen der Aktionspotentiale zwischen $t = 30$ und 75 min nach Beginn der Perfusion mit Ouabain erörtert.

Für die Versuche mit Verapamil und g-Strophanthin werden 13 Ableitungen aus 8 Präparaten verwendet.

Abb.19 b zeigt an übereinanderprojizierten Aktionspotentialen charakteristische, durch die Interaktion von Verapamil und g-Strophanthin bedingte Veränderungen des Aktionspotentials. Hierbei ist - wie bei den entsprechenden Versuchen ohne Verapamil (3.3.) - eine anfängliche Verstärkung des Notch'es mit anschließender Verringerung typisch.

4.2.1. Maximales diastolisches Potential (MDP) und Aktionspotentialamplitude (AP) (Abb.20)

Wenn nach 30 min Perfusion mit Verapamil zusätzlich g-Strophanthin appliziert wird, nehmen diese beiden Parameter während der ersten 75 min annähernd linear um einen kleinen Betrag ab, wobei der Verlauf weitgehend demjenigen des Versuchskollektivs im niedrigen Calcium, aber ohne

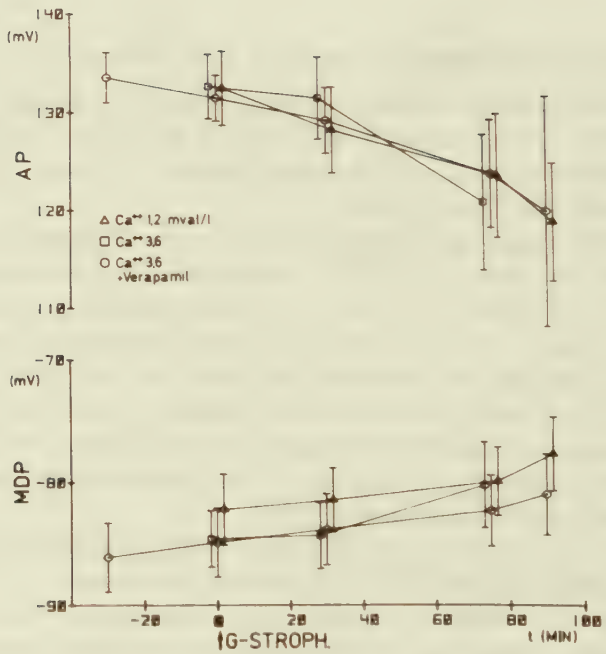


Abb.20: Verlauf des maximalen diastolischen Potentials (MDP) und der Aktionspotentialamplitude (AP) nach der Applikation von g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7}\text{M}$) zu verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und zu Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}\text{M}$)

Verapamil entspricht (3.3.1.).

Zwischen $t = 30$ und 75 min depolarisiert das MDP um nur $1,6 \pm 1,9$ mV, und die AP verringert sich ebenfalls nur geringfügig um $5,6 \pm 3,1$ mV.

Im Vergleich zu entsprechenden Versuchen mit Ouabain in einer Calcium-Ionen-Konzentration von $3,6$ mval/l, aber ohne Verapamil, sind die Wirkungen hinsichtlich dieser beiden Parameter signifikant schwächer ($p < 0,001$).

4.2.2. Take off Potential (TOP), Anstiegsgeschwindigkeit ($V_{\max}$) Anstiegsamplitude (AP_{Na}), Overshoot (OS) (Abb. 21, 22)

Wegen der sich anfänglich nicht verändernden diastolischen Depolarisation verläuft das TOP zwischen $t = 0$ und 30 min völlig parallel zum MDP, depolarisiert jedoch anschließend auf Grund zunehmender diastolischer Depolarisation (s.u.) zwischen $t = 30$ und 75 min mit $2,8 \pm 2,6$ mV stärker als das MDP.

Gleichzeitig nehmen auch die vom TOP mitbestimmten Parameter (111) der Aufstrichphase (Phase 0) des Aktionspotentials ab.

So verringert sich die $V_{\max}$ im Zeitraum zwischen $t = 30$ und 75 min um $38,3 \pm 38$ V/s.

Desgleichen nimmt die AP_{Na} mit $6,6 \pm 3,6$ mV und der OS mit $3,8 \pm 2,5$ mV ebenfalls nur wenig ab.

TOP ($p < 0,001$), $V_{\max}$ ($p < 0,002$), AP_{Na} ($p < 0,001$) und OS ($p < 0,02$) zeigen im Vergleich zum Versuchskollektiv mit gleicher Calcium-Konzentration, aber ohne Verapamil, signifikante Unterschiede in dem Sinne, daß Digitalis-bedingte Veränderungen sich in Gegenwart von Verapamil langsamer entwickeln.

Bei all diesen Parametern fällt wiederum die große Ähnlichkeit mit dem Versuchskollektiv in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration (3.3.2.) ins Auge.

4.2.3. Aktionspotentialdauer (APD) und effektive Refraktärperiode (ERP) (Abb. 23)

Nach dem Beginn der Perfusion mit g-Strophanthin zeigt sich der charakteristische biphasische Verlauf (3.3.3.)

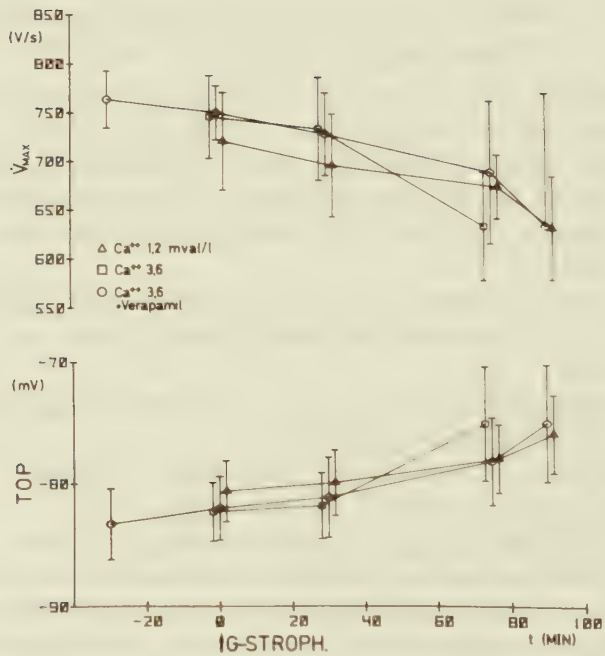


Abb.21: Verlauf des Take off Potentials (TOP) und der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit (V_{max}) nach der Applikation von g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7}M$) zu verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und zu Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}M$)

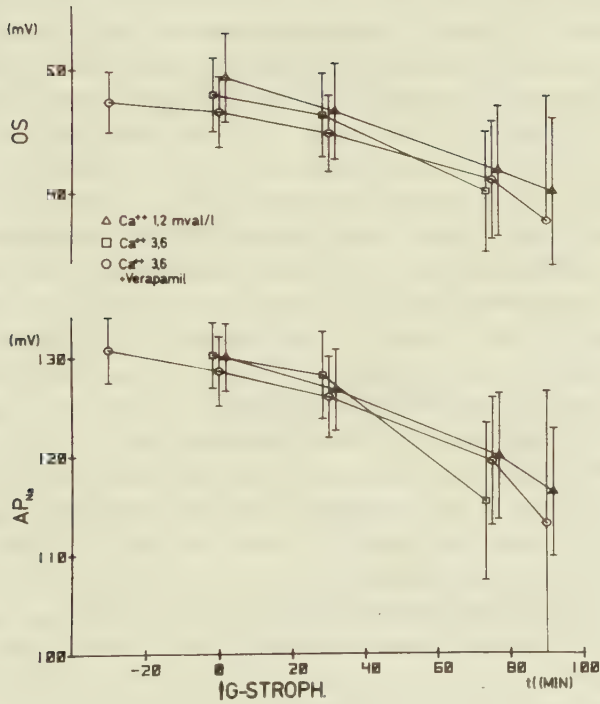


Abb.22: Verlauf der Anstiegssamplitude (AP_{Na}) und des Overshoots (OS) nach der Applikation von g -Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7}\text{M}$) zu verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und zu Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}\text{M}$)

der beiden genannten Aktionspotentialparameter.

Die APD erreicht nach 40 min ihren Maximalwert mit einer Verlängerung um 21,8 ms. Die Verlängerung ist im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant ($p < 0,001$).

In der daran anschließenden Zeitspanne verkürzt sich die APD, nimmt allerdings zwischen $t = 30$ und 75 min nur um $15,5 \pm 23,5$ ms ab. Die g-Strophanthin-bedingte Verlängerung der APD verläuft somit bei gleichzeitiger Perfusion mit Verapamil wesentlich protrahierter als in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration (Abb.23). Man sollte jedoch berücksichtigen, daß sich die Kontrollen (ohne g-Strophanthin) bei Perfusion mit niedrigem Calcium oder Verapamil in ihrem Verlauf deutlich unterscheiden, indem die APD im niedrigen Calcium stetig ab-, in Verapamil jedoch stetig zunimmt.

Wir berücksichtigen dies, indem wir die zunehmende Differenz der genannten Kontrollkollektive errechnen und die sich ergebenden Werte vom Verlauf der APD beim Versuchskollektiv (mit Verapamil und Ouabain) abziehen.

Die resultierende Kurve ist in Abb. 23 eingezeichnet (*) und zeigt starke Ähnlichkeit mit dem Verhalten der APD in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration.

Die ERP verläuft ähnlich der APD und erreicht 50 min nach der Gabe von g-Strophanthin mit einer Verlängerung um 30,1 ms ihren Maximalwert. Diese Zunahme ist ebenfalls signifikant ($p < 0,001$).

Die Verkürzungsphase der ERP verläuft noch flacher als bei der APD. Die ERP nimmt zwischen $t = 30$ und 75 min nur um $1,9 \pm 20,2$ ms ab.

Der Verlauf von APD und ERP ist zwischen $t = 30$ und 75 min sowohl gegenüber dem entsprechenden Versuchskollektiv mit der gleichhohen Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l ohne Verapamil ($p < 0,001$) als auch gegenüber demjenigen mit der niedrigen Konzentration von 1,2 mval/l ($p < 0,005$ bzw. $p < 0,001$) signifikant unterschiedlich, d.h. die Verkürzung dieser beiden Parameter ist unter Verapamil-Einfluß am kleinsten.

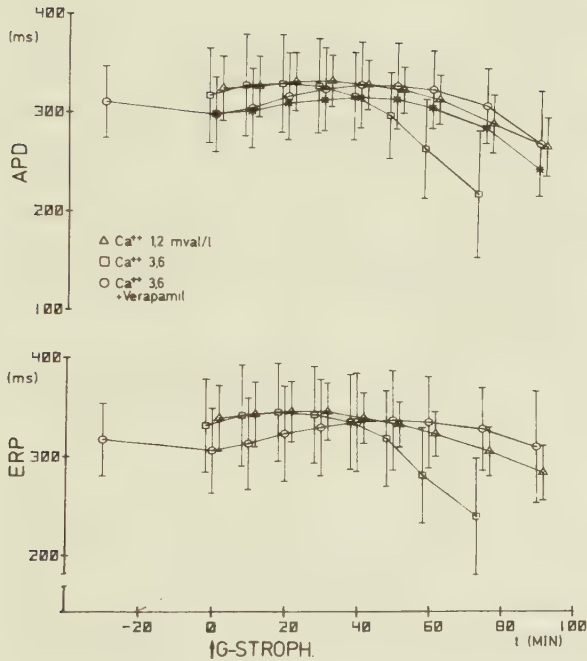


Abb.23: Verlauf der Aktionspotentialdauer (APD) und der effektiven Refraktärperiode (ERP) nach der Applikation von g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7}M$) zu verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und zu Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}M$)
*Verlauf der APD unter Berücksichtigung der divergenten Entwicklung der entsprechenden Kontrollen (siehe 4.2.3.)

4.2.4. Maximale diastolische Depolarisationsgeschwindigkeit (DD) diastolische Amplitude (DA), diastolische Oszillationen (TD) (Abb. 24)

Diese Parameter des Aktionspotentials werden weder durch Verapamil allein, noch während der ersten 30 min der Perfusion mit g-Strophanthin beeinflusst.

Ab $t = 30$ min wird jedoch eine ausgeprägte Zunahme von DD und DA deutlich.

Dabei vergrößert sich die DD zwischen $t = 30$ und 75 min mit $6,9 \pm 8,8$ mV/s signifikant stärker ($p < 0,05$) als im Versuchskollektiv mit niedrigem Calcium, bleibt aber zugleich kleiner ($p < 0,005$) als im mittleren Calcium (mit g-Strophanthin, aber ohne Verapamil).

Bei der DA bestehen nur im Vergleich zur mittelhohen Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l deutliche Unterschiede ($p < 0,02$), wobei die Zunahme unter Verapamil nur $1,4 \pm 2$ mV beträgt.

Diastolische Oszillationen (TD) treten während der beobachteten Zeit nur in 2 der 8 Präparate auf und lassen nie echte Schrittmacheraktivität erkennen.

4.2.5. Extrasystolie und Spontanaktivität (Abb.15)

Während 105 min Perfusion mit g-Strophanthin zeigen 4 der 8 Präparate nur Extrasystolie, und ein weiteres Präparat neben dieser auch Spontanaktivität. 63% unserer Purkinje Fäden erzeugen demnach während der beobachteten Zeit unabhängig vom externen Reiz auftretende Aktionspotentiale. 4 dieser 5 arrhythmischen Präparate zeigen teilweise Bigeminie-ähnliche Extrasystolen.

Während wir in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l unter Ouabain signifikant weniger ($p < 0,03$) arrhythmische Aktionspotentiale fanden als in mittelhoher von 3,6 mval/l (3.3.5.), ist bei zusätzlicher Perfusion mit Verapamil ein derartiger Unterschied nicht nachweisbar.

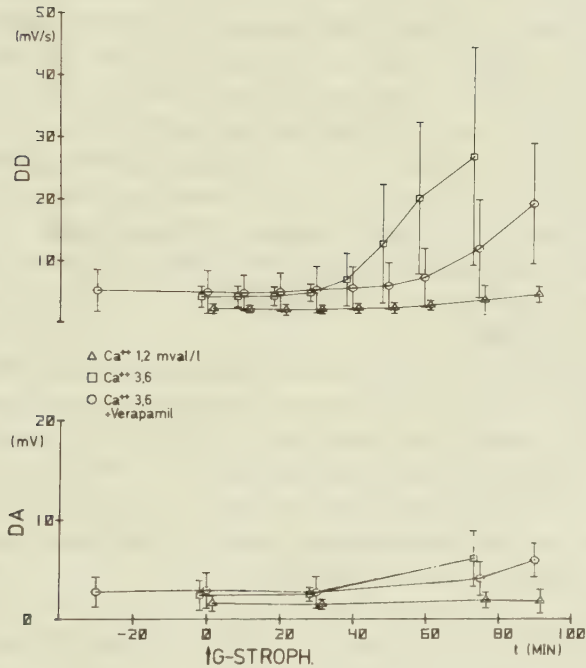


Abb.24: Verlauf der diastolischen Amplitude (DA) und der maximalen diastolischen Depolarisationsgeschwindigkeit (DD) nach der Applikation von g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7}\text{M}$) zu verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und zu Verapamil ($2,5 \times 10^{-6}\text{M}$)

4.3. Wirkungen des Verapamils (ohne g-Strophanthin)

Die Wirkungen des Verapamils beurteilen wir, indem wir im Versuchsablauf völlig identische Abschnitte ($t = -30$ bis $t = 0$ min) der Kontroll- und Versuchskollektive (4.1. und 4.2.) zu einem größeren Kollektiv zusammenfassen, welches dann 21 Ableitungen aus 13 Präparaten umfaßt.

Dieses große Kollektiv erlaubt 30 min lang eine Beurteilung der Wirkungen des Verapamils im Vergleich zum Kontrollkollektiv ohne Verapamil, aber mit gleicher Calcium-Ionen-Konzentration von $3,6 \text{ mval/l}$.

Schon bald nach Zugabe des Verapamils fällt eine Abflachung des Plateaus der Aktionspotentiale auf (Abb.19). Dabei verändert sich jedoch weder die APD noch die ERP im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant.

Eine signifikante ($p < 0,05$) Verlängerung der APD - nicht jedoch der ERP - zeigt sich erst nach 95 min Perfusion mit Verapamil.

Auf den OS und die diastolische Depolarisation (DD und DA) zeigt 30 min Perfusion mit Verapamil keine Wirkung.

Statistisch signifikant depolarisieren hingegen zwischen $t = -30$ und 0 min das MDP mit $1,4 \pm 1,4 \text{ mV}$ sowie das TOP mit $1,6 \pm 1,4 \text{ mV}$ ($p < 0,01$ bzw. $p < 0,005$).

Auch die Aufstrichphase (Phase 0) des Aktionspotentials verkleinert sich signifikant:

Die $V_{\max}$ verringert sich um $13,8 \pm 8 \text{ V/s}$ ($p < 0,02$) und die AP_{Na} um $2,2 \pm 1,1 \text{ mV}$ ($p < 0,001$). Deutlich verkleinert sich ferner die AP mit $2,1 \pm 1 \text{ mV}$ ($p < 0,001$).

Somit zeigen sowohl Parameter der Diastole (MDP, TOP) als auch Parameter der schnellen Aufstrichphase des Aktionspotentials (AP, AP_{Na} , $V_{\max}$) eine signifikante Verkleinerung durch Verapamil innerhalb von 30 min, während APD, ERP, OS und diastolische Depolarisation (DD, DA) in der gleichen Zeit nicht verändert werden.

4.5. Diskussion

Die Wirkung von Verapamil allein, d.h. ohne zusätzliche Perfusion mit g-Strophanthin, wurde am isolierten Purkinje Faden bereits von anderen Autoren hinsichtlich MDP, AP, $V_{\max}$, APD, ERP und diastolischer Depolarisation untersucht (20, 89, 91).

Unsere Ergebnisse stimmen - mit Ausnahme der Messungen der diastolischen Depolarisation - mit deren Resultaten gut überein. So finden auch diese Autoren bei der APD und ERP in einer niedrigen Verapamil-Konzentration von $2,5 \times 10^{-6} M$ anfänglich keine signifikante Verlängerung. Eine solche wird - entsprechend unseren Versuchsergebnissen - erst nach längerer Expositionszeit beschrieben.

Im Gegensatz zu diesen Untersuchungen, bei denen sich entsprechende Veränderungen nur andeuteten, nimmt unter unseren Versuchsbedingungen das MDP, die AP und die $V_{\max}$ schon innerhalb der ersten 30 min nach Beginn der Perfusion mit Verapamil signifikant ab. Dieser Unterschied ist wahrscheinlich zu einem kleinen Teil auf die in unseren Versuchen geringere Calcium-Gesamtkonzentration von 4,5 mval/l (jene 5,4 mval/l) zurückzuführen, da Calcium die Wirkung des Verapamils abschwächt (20, 42, 63). Wesentlicher dürfte jedoch sein, daß unser Kollektiv viel größer (3 bis 4 x) ist als bei den genannten Untersuchern, und dadurch die erwähnten geringgradigen Änderungen faßbar sind.

Die Abnahme des MDP und des TOP bei Perfusion mit Verapamil kann durch eine Zunahme des Leckstroms und/oder eine Abnahme der Kalium-Permeabilität bedingt sein.

Für eine Vergrößerung des Leckstroms durch Verapamil sind uns aus dem Schrifttum keine Hinweise bekannt. Auch ist die Förderung des aus Natrium- und Calcium-Ionen bestehenden Leckstroms mit den bisher bekannten Calcium- und Natriumblockierenden Eigenschaften des Verapamils (siehe Einleitung) kaum zu vereinbaren.

Da Calcium-Ionen jedoch - wie auch unsere Experimente mit verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen bestätigen - sehr wahrscheinlich die Kalium-Permeabilität erhöhen (40, 50, 52, 59, 73, 75), könnte eine durch Verapamil bedingte intrazelluläre Verarmung an Calcium mit sekundärer

Abnahme der Kalium-Permeabilität für die Depolarisation von MDP und TOP verantwortlich sein.

Die Verkleinerung der AP_{Na} und der V_{max} korreliert nach unseren Meßergebnissen weitgehend mit der Abnahme des TOP und ist wohl überwiegend durch diese bedingt. Es werden aber auch hemmende Wirkungen des Verapamils auf den schnellen Natriumstrom des AP beschrieben (7, 63, 98). Ein derartiger zusätzlicher Effekt ist nicht auszuschließen. Unter den Wirkungen des Verapamils wird auch eine Abnahme der diastolischen Depolarisation angegeben (20, 42, 89, 91). Wir können dies unter unseren Versuchsbedingungen nicht bestätigen. Allerdings wird auch in den zitierten Arbeiten bei einem Teil der Versuche keine (89) oder eine nicht signifikante (42) Verminderung der diastolischen Depolarisation gefunden.

Dabei könnte von Bedeutung sein, daß die Wirkungen des Verapamils auf die diastolische Depolarisation bei gut erhaltenen Membranpotentialen schwächer zu sein scheint als bei depolarisierten Zellen (42).

Untersuchungen von Calcium-abhängigen Aktionspotentialen (20) und Aktionspotentialen des Sinusknotens (50, 64, 114) legen ebenfalls die Vermutung nahe, daß Verapamil einen Calciumstrom erst bei relativ niedrigen, d.h. gering negativen Potentialen hemmt.

Unser Befund, daß Verapamil die diastolische Depolarisation nicht verändert, kann nach den obigen Ausführungen darauf zurückgeführt werden, daß

- 1) ein Calcium-Kanal bei den vorliegenden hohen Membranpotentialen (< -80 mV) keine merkliche Rolle spielt oder
- 2) ein solcher Calcium-Kanal bei hohen Membranpotentialen gegenüber Verapamil unempfindlich ist.

Unsere Ergebnisse bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen (3.) weisen auf eine direkte Beteiligung von Calcium-Ionen bei der Verstärkung der diastolischen Depolarisation durch Ouabain hin und lassen damit die unter 2) genannte Möglichkeit als die wahrscheinlichere erscheinen.

Bei Betrachtung des Kollektivs mit zusätzlicher Ouabain-Perfusion (4.2.) ist offensichtlich, daß die Wirkung von g-Strophanthin ($2,5 \times 10^{-7} \text{M}$) bei Perfusion mit Verapamil ($2,5 \times 10^{-6} \text{M}$) in einer Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l den Effekten von g-Strophanthin in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l (ohne Verapamil) weitgehend entspricht.

Verapamil scheint demnach in unseren Versuchen die Wirkung des g-Strophanthins primär über seinen Calcium-antagonistischen Effekt abzuschwächen, wobei eine Reduktion des transmembranen Calciumstroms (63) mit einer Abnahme des intrazellulär verfügbaren Calciums (9) eine Rolle spielen dürfte. Eine Ausnahme bildet jedoch auch hier die diastolische Depolarisation, die unter g-Strophanthin bei Perfusion mit Verapamil signifikant stärker zunimmt als in der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l.

Bei der in Abschnitt 3. dieser Arbeit gezeigten starken Abhängigkeit der Ouabain-bedingten diastolischen Depolarisation von der extrazellulären Calcium-Ionen-Konzentration ist diese schwache Wirkung des Calcium-Antagonisten Verapamil auf die diastolische Depolarisation überraschend, vor allem wenn man die weitgehend der niedrigen Calcium-Konzentration entsprechende Beeinflussung der anderen Parameter berücksichtigt.

Andererseits paßt dies jedoch zu den oben diskutierten fehlenden Effekten des Verapamils auf die diastolische Depolarisation in den Experimenten ohne Zugabe von g-Strophanthin und zu den Beobachtungen anderer Autoren über eine höhere Wirksamkeit des Verapamils bei stärkerer Depolarisation des Membranpotentials (20, 42, 50, 64, 114). Mit unseren Befunden stimmen auch Beobachtungen überein, daß die Applikation von Verapamil bei bereits bestehender Digitalisintoxikation manchmal nur eine leichte Reduktion der gesteigerten diastolischen Depolarisation einschließlich diastolischer Oszillationen (TD) bewirkt (38, 89). Verapamil imitiert also in unseren Experimenten einerseits weitgehend die Effekte niedriger Calcium-Ionen-Konzentration, kann aber andererseits die Zunahme der diastolischen

Depolarisation, die höchstwahrscheinlich Calcium-abhängig ist (3.), nur unvollständig unterdrücken.

Eine denkbare Erklärung dieser Befunde ist auch hier - ebenso wie bei den fehlenden Wirkungen des Verapamils allein (d.h. ohne Ouabain) auf die diastolische Depolarisation (s.o.) - in einer Abhängigkeit der Wirksamkeit des Verapamils vom Membranpotential zu finden:

Verapamil hemmt bei relativ stark depolarisierten Potentialen (z.B. Plateauphase des Aktionspotentials) den Calciumeinstrom (63) und führt dadurch zu einer Verringerung des intrazellulär verfügbaren Calciums (9) mit Versuchen in niedriger Calcium-Konzentration entsprechenden Veränderungen der meisten gemessenen Aktionspotentialparameter, kann aber andererseits bei relativ stark negativen Membranpotentialen einen Calciumeinstrom nicht (völlig) blockieren.

Diese Abhängigkeit der Wirkung des Verapamils vom Membranpotential könnte also die Effekte des Verapamils auf die diastolische Depolarisation sowohl mit als auch ohne Perfusion mit g-Strophanthin erklären.

Etwas abweichend von den Wirkungen des g-Strophanthins im niedrigen Calcium verhalten sich unter Verapamil auch die APD und die ERP. Bei diesen Parametern erfolgt die Verkürzung nach Applikation von Ouabain deutlich verzögert.

Wie unter 4.2.3. gezeigt werden konnte, beruht die langsamere Abnahme der APD höchstwahrscheinlich auf der Überlagerung zweier voneinander unabhängiger Veränderungen, nämlich:

- 1) Einer durch Verapamil allein, d.h. unabhängig vom g-Strophanthin bedingten stetigen Verlängerung der APD.
- 2) Einer Ouabain-bedingten anfänglichen Zunahme der APD mit anschließender Verkürzung, welche parallel zu entsprechenden Versuchen in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration verlaufen.

Ad 1): In Versuchen mit voltage clamp Technik konnte gezeigt werden, daß niedrige Dosen von D 600 (des Methoxy-Derivats von Verapamil) unabhängig vom Calcium einen repolarisierenden Kaliumstrom (i_x) hemmen und dadurch zu einer Verlängerung der APD beitragen (57).

Ad 2): Der durch Verapamil verursachte Mangel an intrazellulär verfügbaren Calcium-Ionen (9) verzögert wahrscheinlich ähnlich wie niedriges extrazelluläres Calcium die Verkürzung der APD durch g-Strophanthin.

Eine Überlagerung dieser beiden Effekte würde den beobachteten Verlauf der APD erklären.

Das im Vergleich mit der niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration häufigere Auftreten Ouabain-bedingter, reizunabhängiger Aktionspotentiale bei Perfusion mit Verapamil kann wohl nicht auf eine Begünstigung von Reentry-Mechanismen durch eine stärkere Abnahme von $V_{\max}$ oder ERP unter Verapamil zurückgeführt werden, da diese Parameter bei der Perfusion mit Verapamil gleich bzw. weniger stark abnehmen als im niedrigen Calcium.

Abschließend läßt sich sagen, daß Verapamil ähnlich wirkt wie niedriges extrazelluläres Calcium, bei einigen Parametern jedoch (DD, DA, Extrasystolie und Spontanaktivität) die toxischen Wirkungen von g-Strophanthin nicht so effektiv abschwächt wie eine niedrige Calcium-Ionen-Konzentration.

5. ZUSAMMENFASSUNG

An isolierten Purkinje Fäden des Schafherzens wurden intrazellulär Aktionspotentiale abgeleitet. Bei vorbestehenden unterschiedlichen Calcium-Ionen-Konzentrationen von 1,2 , 3,6 (zum Teil mit Verapamil $2,5 \times 10^{-6} \text{M}$) und 7,2 mval/l wurde g-Strophanthin (Ouabain) zu einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-7} \text{M}$ zugegeben und der zeitliche Verlauf mehrerer Aktionspotentialparameter (AP, AP_{Na} , APD, DA, DD, ERP, MDP, OS, TOP und V_{max}) gemessen.

Die Konzentration des ionisierten Calciums wurde direkt mit einer ionenselektiven Elektrode bestimmt.

Mit Hilfe dieser Versuchsdurchführung sollten folgende Fragen beantwortet werden:

- 1.) Welche Veränderungen elektrophysiologischer Aktionspotentialparameter bewirkt g-Strophanthin in Abhängigkeit von der Expositionszeit?
- 2.) Welchen Einfluß haben verschiedene vorbestehende Calcium-Ionen-Konzentrationen auf diese Veränderungen?
- 3.) Wie wirkt sich Verapamil auf abgeleitete Aktionspotentiale aus?
- 4.) Welche Interaktionen bestehen zwischen Verapamil und g-Strophanthin?
- 5.) Gibt es Unterschiede zwischen den Wirkungen niedriger Calcium-Ionen-Konzentration und denen des Verapamils?

Ad 1.) In allen drei Calciumkonzentrationen trat nach Zugabe von g-Strophanthin zuerst eine vorübergehende signifikante Verlängerung der Aktionspotentialdauer und der effektiven Refraktärperiode auf, ohne daß deutliche Änderungen der anderen gemessenen Parameter durch Ouabain bewirkt wurden.

Anschließend verkürzte sich die Aktionspotentialdauer und die effektive Refraktärperiode in allen Calciumkonzentrationen zunehmend und zeigte damit den Beginn von Digitalis-bedingten toxischen Verän-

derungen an. Diese bestanden in einer Zunahme der diastolischen Depolarisation und einer Verkleinerung der übrigen gemessenen Aktionspotentialparameter.

Ad 2.) In den beiden höheren Calcium-Ionen-Konzentrationen von 3,6 und 7,2 mval/l zeigte sich g-Strophanthin wesentlich stärker wirksam als in der niedrigen Konzentration von 1,2 mval/l.

Diese Wirkungsverstärkung war jedoch überraschenderweise nicht in der hohen Calcium-Ionen-Konzentration von 7,2 mval/l am meisten ausgeprägt, sondern in der mittleren von 3,6 mval/l: In dieser Konzentration zeigte sich g-Strophanthin im Vergleich zur niedrigen Calcium-Ionen-Konzentration von 1,2 mval/l hinsichtlich aller Aktionspotentialparameter mit Ausnahme des Overshoots signifikant stärker wirksam. Auch das Auftreten digitalisbedingter, unabhängig vom externen Reiz auftretender Aktionspotentiale war signifikant häufiger. Diese zeigten in ihrer Mehrzahl starke Ähnlichkeit mit "Bigeminie" und "Tachykardie". Das Auftreten solcher Bigeminus-ähnlicher Aktionspotentiale durch den Übergang von diastolischen Oszillationen in echte Schrittmacheraktivität konnte nachgewiesen werden.

In der hohen Calcium-Ionen-Konzentration von 7,2 mval/l wirkt g-Strophanthin zwar stärker als in der niedrigen Konzentration von 1,2 mval/l, jedoch deutlich schwächer als in der mittleren Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l.

Eine Erhöhung des Calciums um 100% von 3,6 auf 7,2 mval/l führte also zu keiner weiteren Verstärkung, sondern zu einer Abschwächung der Toxizität von g-Strophanthin. Diese Abschwächung war hinsichtlich der Aktionspotentialamplitude, der Anstiegsgeschwindigkeit, der Anstiegsamplitude, des Overshoots und des Auftretens von spontanen Aktionspotentialen signifikant, bei den anderen Parametern nur angedeutet.

- Ad 3.) Bei einem Teil der Versuche wurde bei der Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l Verapamil ($2,5 \times 10^{-6} \text{M}$) zugegeben. Innerhalb von 30 Minuten bewirkte Verapamil (ohne g-Strophanthin) eine signifikante Abnahme des maximalen diastolischen Potentials, des take off Potentials, der Aktionspotentialamplitude, der Anstiegsamplitude und der Anstiegsgeschwindigkeit. Die Aktionspotentialdauer, die effektive Refraktärzeit und die diastolische Depolarisation veränderten sich in dieser Zeit nicht. Eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer war erst nach 90 Minuten nachweisbar.
- Ad 4.) Wenn nach 30-minütiger Perfusion mit Verapamil (3,6 mval/l Ca^{++}) zusätzlich g-Strophanthin appliziert wurde, verminderte Verapamil bei allen gemessenen Aktionspotentialparametern die Toxizität des g-Strophanthins. Nur hinsichtlich Digitalis-bedingter, spontan auftretender Aktionspotentiale ergaben sich keine deutlichen Unterschiede.
- Ad 5.) Ouabain bewirkte in der Calcium-Ionen-Konzentration von 3,6 mval/l mit Verapamil-Zusatz weitgehend gleiche Veränderungen der Aktionspotentialparameter wie in der Calciumkonzentration von 1,2 mval/l. Signifikante Unterschiede bestanden nur hinsichtlich der Aktionspotentialdauer und der effektiven Refraktärperiode, welche bei Perfusion mit Verapamil durch Ouabain nur sehr langsam verkürzt wurden, sowie hinsichtlich der diastolischen Depolarisation, welche wesentlich stärker zunahm als in niedriger Calcium-Ionen-Konzentration. Auch spontan auftretende Aktionspotentiale fanden sich häufiger als in niedrigem Calcium.

Auf Grund der unter 1.) bis 5.) dargestellten Ergebnisse können folgende Schlußfolgerungen gezogen werden:

1) Calcium-Ionen verstärken die Wirkungen von g-Strophanthin am Aktionspotential des isolierten Purkinje Faden (synergistische Wirkung von Calcium-Ionen).

2) Es werden jedoch bei hohen Calcium-Ionen-Konzentrationen Effekte des Calciums meßbar, welche den Wirkungen des Ouabains entgegengerichtet sind (antagonistische Wirkung von Calcium-Ionen).

Dieser Antagonismus wird erst bei hohen Calcium-Ionen-Konzentrationen bemerkbar, weil in diesem Konzentrationsbereich - nach uns vorliegenden Untersuchungen - die Glykosid-bedingte Hemmung der Na^+ , K^+ -ATPase durch Calcium bereits annähernd maximal verstärkt ist, sodaß eine weitere Erhöhung der Calcium-Konzentration die hemmenden Effekte des Ouabains an der Na^+ , K^+ -ATPase nicht weiter verstärkt, sehr wohl aber die antagonistischen Wirkungen von Calcium-Ionen, welche dadurch bemerkbar werden.

Die antagonistischen Effekte des Calciums beruhen auf einer Erhöhung der Kalium-Permeabilität, einer Verschiebung des Schwellenpotentials zu positiveren Werten und einer Förderung des schnellen Natriumstroms (Phase 0) durch Calcium.

3) Die dargestellten, einander entgegengerichteten Wirkungen von Calcium in Abhängigkeit von der Konzentration sind eine mögliche Ursache für widersprüchliche Angaben im Schrifttum über die Interaktion von herzwirksamen Glykosiden und Calcium.

Ein Vergleich dieser Arbeiten unter Berücksichtigung unserer Ergebnisse ist nur mit großen Einschränkungen möglich, da nur in unseren Untersuchungen die biologisch wirksame Calcium-Ionen-Konzentration bestimmt wurde.

4) In erhöhter Calcium-Konzentration wurden durch Ouabain gehäuft Bigeminie- und Tachykardie-ähnliche Aktionspotentiale ausgelöst. Ihre Entstehung durch den Übergang von diastolischen Oszillationen in Schrittmacheraktivität stellt ein elektrophysiologisches Korrelat für ventrikuläre Rhythmusstörungen bei Glykosidintoxikation in vivo dar.

- 5) Die Beobachtung, daß Verapamil in einer Konzentration von $2,5 \times 10^{-6} \text{M}$ die Wirkungen des g-Strophanthins hinsichtlich fast aller gemessenen Parameter ebenso wirksam hemmt wie die niedrige Calcium-Ionen-Konzentration von $1,2 \text{ mval/l}$ ist mit der im Schrifttum belegten Calcium-antagonistischen Wirkung von Verapamil gut zu vereinbaren.

Die Tatsache, daß Verapamil die diastolische Depolarisation wesentlich weniger hemmt als die niedrige Calcium-Konzentration, ist jedoch mit dieser Calcium-antagonistischen Eigenschaft des Verapamils kaum zu vereinbaren, da unsere Versuche mit unterschiedlichen Calcium-Konzentrationen darauf hinweisen, daß ein Calcium-Einstrom in die Zelle an der Zunahme der diastolischen Depolarisation bei Perfusion mit Ouabain beteiligt ist.

Wir nehmen deshalb an, daß Verapamil zwar einen transmembranen Calciumstrom bei depolarisierten Membranpotentialwerten hemmt (z.B. den Plateaustrom), dazu jedoch bei stark negativen Potentialwerten (z.B. in der Diastole) nicht in der Lage ist.

- 6) Wegen der gemessenen Depolarisation des maximalen diastolischen Potentials durch Verapamil ohne g-Strophanthin ist eine Verringerung der Kalium-Permeabilität durch Verapamil denkbar. Diese könnte auf einer Verapamil-bedingten intrazellulären Verarmung an Calcium beruhen.
- 7) Eine Hemmung des schnellen Natriumstroms durch Verapamil ist mit unseren Ergebnissen zu vereinbaren, scheint jedoch hauptsächlich durch die Depolarisation des Take off Potentials bedingt zu sein.

TABELLE 1: Zeitlicher Verlauf des maximalen diastolischen Potentials (mV) bei verschiedenen Ca^{++} -Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca^{++} mval/l	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE ^o	1,2	-83,4 ±2,0 n=8			-82,6 ±1,7 n=8				-82,2 ±2,3 n=8	-82,0 ±2,8 n=8
	3,6	-84,3 ±2,2 n=9	-84,2 ±2,6 n=9		-84,5 ±2,5 n=9				-84,6 ±3,0 n=9	-84,5 ±3,3 n=9
	7,2		-84,6 ±2,6 n=5		-84,8 ±2,4 n=5				-84,6 ±1,6 n=5	-84,2 ±1,7 n=5
	3,6 + V	-85,4 ±3,0 n=8	-83,6 ±2,2 n=8		-83,5 ±2,8 n=8				-82,1 ±3,3 n=8	-82,0 ±4,4 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE ^o	1,2		-82,2 ±2,9 n=14		-81,4 ±2,6 n=14				-79,9 ±2,8 n=12	-77,7 ±3,0 n=10
	3,6		-84,6 ±2,3 n=22		-84,3 ±2,7 n=22				-80,2 ±3,5 n=17	-75,8
	7,2		-86,3 ±2,9 n=14		-85,6 ±2,7 n=14				-82,3 ±3,7 n=14	-78,9 ±5,3 n=13
	3,6 + V	-86,1 ±2,8 n=13	-84,9 ±2,8 n=13		-83,8 ±2,9 n=13				-82,3 ±2,9 n=13	-81,0 ±3,3 n=8

^o OHNE G-STROPHANTHIN

^o MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

TABELLE 2: Zeitlicher Verlauf der Aktionspotentialamplitude (mV) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)							
	-30	0	10	20	30	40	50	60
KONTROLLKOLLEKTIVE°	1,2	129,5 ±4,3 n=8			128,4 ±3,6 n=8	127,1 ±5,4 n=8	127,1 ±5,2	127,1 ±5,2 n=8
	3,6	130,5 ±4,5 n=9	130,0 ±4,6 n=9		130,2 ±4,6 n=9	130,0 ±4,7 n=9	129,8 ±4,6 n=9	129,8 ±4,6 n=9
	7,2		134,3 ±1,8 n=5		134,8 ±2,8 n=5	135,3 ±2,8 n=5	135,4 ±2,5	135,4 ±2,5 n=5
	3,6 + V	133,4 ±4,5 n=8	131,2 ±4,9 n=8		131,2 ±4,4 n=8	129,9 ±4,9 n=8	129,5 ±5,0 n=8	129,5 ±5,0 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE°	1,2		132,4 ±3,8 n=14		128,0 ±4,4 n=14	123,2 ±6,3 n=12	118,4 ±6,0 n=10	118,4 ±6,0 n=10
	3,6		132,6 ±3,3 n=22		131,3 ±4,2 n=22	120,5 ±6,9 n=17	108,4	108,4
	7,2		136,5 ±2,8 n=15		135,0 ±2,9 n=15	128,7 ±5,5 n=15	123,1 ±7,9 n=14	123,1 ±7,9 n=14
	3,6 + V	133,6 ±2,6 n=13	131,4 ±2,4 n=13		129,0 ±3,4 n=13	123,4 ±5,5 n=13	119,5 ±11,7 n=8	119,5 ±11,7 n=8

° OHNE G-STROPHANTHIN

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t = -30 MIN

ZUGABE BEI t = 0 MIN

TABELLE 3; Zeitlicher Verlauf des Take off potentials (mV) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Cd ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	-81,4 +2,7 n=8			-80,8 +2,0 n=8				-79,9 +2,8 n=8	-79,8 +3,3 n=8
	3,6	-82,0 +2,2 n=9	-81,9 +2,4 n=9		-82,3 +2,2 n=9				-82,3 +2,8 n=9	-82,3 +3,0 n=9
	7,2		-81,7 +1,7 n=5		-82,3 +1,7 n=5				-81,9 +1,0 n=5	-81,8 +1,0 n=5
	3,6 + V	-82,0 +2,4 n=8	-80,1 +1,7 n=8		-80,0 +1,8 n=8				-78,7 +2,5 n=8	-79,1 +3,6 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE	1,2		-80,6 +2,5 n=14		-79,9 +2,7 n=14				-78,0 +2,8 n=12	-76,0 +3,2 n=10
	3,6		-82,3 +2,4 n=22		-81,8 +2,7 n=22				-75,1 +4,7 n=17	-71,2
	7,2		-84,2 +3,2 n=14		-83,6 +3,2 n=14				-77,2 +4,6 n=14	-74,3 +6,6 n=13
	3,6 + V	-83,3 +2,9 n=13	-82,0 +2,6 n=13		-81,1 +3,3 n=13				-78,2 +3,6 n=13	-75,1 +4,8 n=8

○ OHNE G-STROPHANTHIN
○ MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t = 0 MIN
V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t = -30 MIN

TABELLE 4: Zeitlicher Verlauf der Anstiegssamplitude (mV) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	126,5 ±4,3 n=8			125,6 ±4,0 n=8				124,4 ±5,6 n=8	124,2 ±5,9 n=8
	3,6	128,5 ±4,4 n=9	127,7 ±4,6 n=9		127,9 ±4,5 n=9			127,8 ±4,8 n=9	127,6 ±4,6 n=9	
	7,2		130,7 ±1,7 n=5		131,1 ±2,5 n=5			131,4 ±2,4 n=5	131,1 ±2,2 n=5	
	3,6 + V	130,0 ±4,7 n=8	127,7 ±4,9 n=8		127,2 ±4,9 n=8			126,1 ±5,0 n=8	125,8 ±5,0 n=8	
VERSUCHSKOLLEKTIVE	1,2		130,1 ±3,4 n=14		126,8 ±4,1 n=14				120,0 ±6,4 n=12	116,3 ±6,5 n=10
	3,6		130,3 ±3,3 n=22		128,3 ±4,4 n=22				115,4 ±8,1 n=17	104,0
	7,2		134,0 ±3,4 n=15		132,6 ±3,5 n=15				124,0 ±7,0 n=15	118,1 ±8,6 n=14
	3,6 + V	130,8 ±3,3 n=13	128,7 ±3,5 n=13		126,1 ±4,1 n=13				119,5 ±6,5 n=13	113,1 ±13,5 n=8

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

- OHNE G-STROPHANTHIN
- MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

TABELLE 5: Zeitlicher Verlauf der Anstiegsgeschwindigkeit (V/s) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE ^o	1,2	742,5 ±30,0 n=8			740,0 ±30,0 n=8				730,0 ±42,5 n=8	725,0 ±47,5 n=8
	3,6	772,5 ±22,5 n=9	765,0 ±22,5 n=9		765,0 ±17,5 n=9				767,5 ±20,0 n=9	765,0 ±20,0 n=9
	7,2		745,0 ±35,0 n=5		750,0 ±30,0 n=5				750,0 ±30,0 n=5	750,0 ±27,5 n=5
	3,6 + V	782,5 ±62,5 n=6	772,5 ±65,0 n=6		772,5 ±67,5 n=6				762,5 ±85,0 n=6	760,0 ±90,0 n=6
	1,2		720,0 ±50,0 n=12		695,0 ±52,0 n=12				672,0 ±32,5 n=11	630,0 ±52,5 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE ^o	3,6		745,0 ±42,5 n=22		732,0 ±52,5 n=22				632,0 ±55,0 n=17	518,3
	7,2		725,0 ±67,5 n=10		720,0 ±62,5 n=10				665,0 ±67,5 n=10	652,0 ±77,5 n=9
	3,6 + V	765,0 ±30,0 n=10	750,0 ±27,5 n=10		727,5 ±42,5 n=10				687,5 ±72,5 n=10	632,5 ±135,0 n=8

^o OHNE G-STROPHANTHIN

^o MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

TABELLE 6: Zeitlicher Verlauf des Overshoots (mV) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	45,3 ±3,3 n=8			44,7 ±3,3 n=8				44,5 ±3,9 n=8	44,5 ±3,9 n=8
	3,6	46,5 ±2,8 n=9	46,0 ±3,5 n=9		45,6 ±3,3 n=9				45,5 ±3,2 n=9	45,3 ±3,3 n=9
	7,2		48,8 ±2,1 n=5		48,8 ±1,6 n=5				49,6 ±1,7 n=5	49,3 ±1,5 n=5
VERSUCHSKOLLEKTIVE	3,6 + V	48,0 ±3,9 n=8	47,6 ±4,0 n=8		47,2 ±4,3 n=8				47,4 ±4,2 n=8	47,4 ±4,5 n=8
	1,2		49,5 ±3,6 n=14		46,8 ±3,9 n=14				42,0 ±5,3 n=12	40,3 ±6,0 n=10
	3,6		48,1 ±3,0 n=22		46,5 ±3,4 n=22				40,3 ±4,9 n=17	32,6
	7,2		49,6 ±3,4 n=14		48,8 ±3,1 n=14				45,9 ±4,7 n=14	44,0 ±4,1 n=13
	3,6 + V	47,5 ±2,5 n=13	46,7 ±2,9 n=13		45,0 ±3,1 n=13				41,3 ±4,8 n=13	37,9 ±10,2 n=8

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

- OHNE G-STROPHANTHIN
- MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

TABELLE 7: Zeitlicher Verlauf der Aktionspotentialdauer (ms) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	323,0 +33,2 n=8	319,8 +31,3 n=8	317,6 +30,6 n=8	314,5 +27,8 n=8	314,1 +28,3 n=8	313,4 +28,3 n=8	308,6 +24,3 n=8	307,3 +25,8 n=8	307,0 +23,4 n=8
	3,6	302,8 +34,8 n=9	300,3 +38,3 n=9	300,1 +39,9 n=9	299,1 +41,4 n=9	296,1 +41,8 n=9	295,3 +42,7 n=9	293,5 +44,5 n=9	295,7 +44,6 n=9	294,8 +47,9 n=9
	7,2	297,2 +16,2 n=5	294,0 +16,4 n=5	292,0 +17,0 n=5	290,8 +14,3 n=5	290,2 +14,0 n=5	289,0 +14,9 n=5	289,6 +15,0 n=5	286,6 +14,0 n=5	285,5 +13,6 n=5
VERSUCHSKOLLEKTIVE	3,6 + V	315,0 +49,6 n=8	312,0 +53,7 n=8	313,3 +50,3 n=8	314,1 +52,2 n=8	315,6 +53,7 n=8	317,3 +54,7 n=8	317,4 +54,7 n=8	320,7 +54,4 n=8	324,0 +67,0 n=8
	1,2	326,2 +32,7 n=14	328,9 +30,9 n=14	334,8 +29,7 n=14	336,0 +26,2 n=14	332,6 +25,2 n=14	327,6 +23,6 n=14	318,2 +25,2 n=14	293,9 +29,7 n=12	270,4 +30,0 n=10
	3,6	318,8 +47,9 n=22	330,0 +51,5 n=22	332,4 +49,6 n=22	330,6 +48,1 n=22	320,8 +44,7 n=22	301,4 +44,2 n=22	267,5 +50,9 n=19	221,1 +65,2 n=17	121,8
	7,2	323,6 +44,6 n=15	330,8 +46,0 n=15	333,5 +44,3 n=15	333,3 +41,8 n=15	325,6 +37,2 n=15	307,6 +34,2 n=15	286,0 +37,2 n=15	245,4 +41,2 n=15	201,9 +43,1 n=14
VERSUCHSKOLLEKTIVE	3,6 + V	310,7 +36,2 n=13	299,7 +37,9 n=13	306,9 +40,4 n=13	319,8 +44,3 n=13	327,5 +42,3 n=13	331,8 +43,9 n=13	328,4 +39,7 n=13	311,9 +38,4 n=13	273,6 +53,8 n=8

° OHNE G-STROPHANTHIN
 ° MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN
 ° MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= -30 MIN

TABELLE 8: Zeitlicher Verlauf der effektiven Refraktärperiode (ms) bei verschiedenen

Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	331,2 +20,1 n=8	327,5 +18,7 n=8	325,0 +16,9 n=8	320,8 +16,4 n=8	320,9 +20,0 n=8	321,2 +23,4 n=8	315,1 +23,2 n=8	313,8 +24,6 n=8	313,1 +23,3 n=8
	3,6	310,9 +34,0 n=9	310,7 +36,1 n=9	308,5 +36,8 n=9	306,2 +36,9 n=9	305,5 +39,1 n=9	305,5 +40,1 n=9	302,4 +39,0 n=9	304,8 +39,5 n=9	304,2 +40,8 n=9
	7,2	305,5 +12,7 n=4	300,4 +15,2 n=4	301,5 +12,8 n=4	300,3 + 9,0 n=4	296,1 +10,9 n=4	297,4 +10,1 n=4	296,2 +10,8 n=4	294,8 +10,2 n=4	291,0 +13,5 n=4
VERSUCHSKOLLEKTIVE	3,6 + V	316,9 +43,0 n=8	319,1 +43,0 n=8	319,1 +44,4 n=8	319,3 +45,3 n=8	321,9 +46,7 n=8	321,7 +46,1 n=8	321,4 +49,9 n=8	319,0 +48,8 n=8	324,0 +58,0 n=8
	1,2	338,0 +33,0 n=12	342,0 +32,5 n=12	344,7 +30,5 n=12	344,5 +28,8 n=12	337,9 +25,5 n=12	331,3 +22,8 n=12	321,7 +22,6 n=12	303,8 +24,7 n=10	282,0 +27,7 n=8
	3,6	330,6 +46,8 n=22	340,8 +50,8 n=22	344,1 +49,3 n=22	341,3 +48,7 n=22	334,1 +47,8 n=22	317,2 +48,2 n=22	279,9 +48,1 n=19	238,1 +58,8 n=17	155,4
	7,2	326,7 +45,6 n=15	332,0 +46,9 n=15	334,5 +44,0 n=15	334,0 +42,0 n=15	328,3 +39,4 n=15	313,9 +33,5 n=15	294,6 +32,7 n=15	256,5 +37,5 n=15	214,2 +32,5 n=14
	3,6 + V	317,0 +36,5 n=13	312,6 +46,0 n=13	322,6 +48,0 n=13	328,6 +48,6 n=13	333,8 +49,6 n=13	335,6 +50,3 n=13	333,7 +46,2 n=13	326,7 +42,0 n=13	308,6 +56,8 n=8

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

° OHNE G-STROPHANTHIN
° MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

TABELLE 9: Zeitlicher Verlauf der maximalen diastolischen Depolarisationsgeschwindigkeit (mV/s) bei verschiedenen Ca^{++} -Konzentrationen u. Perfusion mit g-Strophanthin u. /o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE	1,2	2,7 ±1,0 n=8	2,6 ±1,1 n=8	2,7 ±1,0 n=8	2,9 ±1,3 n=8	2,9 ±1,3 n=8	2,7 ±1,3 n=8	2,8 ±1,1 n=8	2,6 ±1,0 n=8	2,6 ±1,0 n=8
	3,6	4,4 ±1,4 n=9	4,3 ±1,3 n=9	4,2 ±0,9 n=9	4,1 ±1,1 n=9	4,1 ±1,0 n=9	4,0 ±1,2 n=9	4,3 ±1,3 n=9	4,3 ±0,9 n=9	4,2 ±1,2 n=9
	7,2		3,8 ±1,6 n=5	4,2 ±2,3 n=5	3,7 ±1,6 n=5	4,0 ±1,9 n=5	3,9 ±1,7 n=5	3,7 ±1,9 n=5	3,9 ±1,9 n=5	3,7 ±1,9 n=5
	3,6 + V	6,7 ±1,5 n=8	6,6 ±2,0 n=8	6,8 ±2,4 n=8	6,9 ±2,6 n=8	6,5 ±2,5 n=8	7,1 ±2,5 n=8	6,8 ±2,4 n=8	6,3 ±2,3 n=8	6,9 ±2,6 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE	1,2		2,4 ±0,8 n=14	2,3 ±0,9 n=14	2,4 ±0,7 n=14	2,6 ±0,8 n=14	2,7 ±0,9 n=14	3,2 ±1,8 n=14	4,1 ±2,4 n=12	5,1 ±1,3 n=10
	3,6		4,3 ±1,7 n=22	4,5 ±1,5 n=22	5,1 ±1,4 n=22	7,3 ±4,3 n=22	13,2 ±9,7 n=22	20,7 ±12,4 n=19	27,5 ±17,7 n=17	
	7,2		4,3 ±1,5 n=15	4,2 ±1,6 n=15	5,0 ±2,0 n=15	5,8 ±2,5 n=15	8,8 ±5,3 n=15	15,8 ±10,9 n=15	20,6 ±12,3 n=15	22,7 ±12,3 n=14
	3,6 + V	5,2 ±3,4 n=13	5,1 ±3,5 n=13	5,2 ±3,1 n=13	5,6 ±3,8 n=13	5,9 ±3,5 n=13	6,3 ±3,8 n=13	7,7 ±4,8 n=13	12,5 ±8,0 n=13	19,9 ±9,8 n=8

° OHNE G-STROPHANTHIN
 ° MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE

V=VERAPAMIL-ZUGABE
 BEI t= -30 MIN
 BEI t= 0 MIN

TABELLE 10: Zeitlicher Verlauf der diastolischen Amplitude (mV) bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen und Perfusion mit g-Strophanthin u./o. Verapamil

Ca ⁺⁺ mval/l	ZEIT t (MIN)									
	-30	0	10	20	30	40	50	60	75	90
KONTROLLKOLLEKTIVE®	1,2	2,0 ±0,8 n=8			1,8 ±0,9 n=8				2,2 ±0,8 n=8	2,1 ±0,9 n=8
	3,6	2,4 ±0,8 n=9	2,3 ±0,6 n=9		2,2 ±0,5 n=9				2,3 ±0,6 n=9	2,3 ±0,7 n=9
	7,2		2,9 ±0,9 n=5		2,5 ±0,7 n=5				2,8 ±0,6 n=5	2,3 ±1,0 n=5
	3,6 + V	3,4 ±1,0 n=8	3,4 ±1,2 n=8		3,5 ±1,2 n=8				3,4 ±1,1 n=8	3,7 ±1,4 n=8
VERSUCHSKOLLEKTIVE®	1,2		1,6 ±0,8 n=14		1,5 ±0,5 n=14				1,9 ±0,7 n=12	1,8 ±1,2 n=10
	3,6		2,4 ±1,5 n=22		2,5 ±0,7 n=22				6,1 ±2,8 n=17	7,1
	7,2		2,1 ±0,9 n=15		2,0 ±1,1 n=15				5,4 ±2,7 n=15	5,3 ±2,8 n=14
	3,6 + V	2,8 ±1,5 n=13	2,9 ±1,8 n=13		2,7 ±1,6 n=13				4,1 ±1,7 n=13	6,0 ±1,7 n=8

• OHNE G-STROPHANTHIN

• MIT G-STROPHANTHIN - ZUGABE BEI t= 0 MIN

V=VERAPAMIL-ZUGABE BEI t= -30 MIN

TABELLE 11: Verlängerung der Aktionspotentialdauer (APD) und der eff. Refraktärperiode (ERP) in den ersten 30 min der Perfusion mit g-Strophanthin (im Vergleich zu den Kontrollkollektiven)

Ca ⁺⁺ -KONZ.(mval/l)		1,2	3,6	7,2	3,6+V
APD (ms)	KONTROLLE	-8,5 ±6,7 n=8	-4,2 ±5,4 n=9	-6,4 ±4,8 n=5	3,5 ±2,9 n=8
	p <	0,001	0,001	0,001	0,001
	G-STROPH	9,8 ±11,8 n=14	11,5 ±11,9 n=22	8,7 ±6,6 n=14	27,8 ±9,1 n=13
ERP (ms)	KONTROLLE	-10,4 ±12,5 n=8	-4,6 ±4,1 n=9	-5,2 ±4,3 n=4	2,4 ±8,7 n=8
	p <	0,007	0,001	0,002	0,001
	G-STROPH.	6,1 ±8,3 n=12	10,7 ±12,5 n=22	7,2 ±6,0 n=15	23,1 ±12,2 n=13

TABELLE 12: Beziehung der Calcium-Ionen-Konzentration zur Calcium-Gesamt-Konzentration unter Berücksichtigung des pH

mval/l	Ca - GESAMT - KONZENTRATION	Ca ⁺⁺ -JONEN - KONZENTRATION	pH
„NIEDRIGES“ Ca	1,6 ± 0,2 n=16	1,2 ± 0,1 n=22	7,30
„MITTLERES“ Ca	4,5 ± 0,4 n=31	3,6 ± 0,3 n=52	7,30
„HOHES“ Ca	8,8 ± 0,8 n=16	7,2 ± 0,6 n=14	7,29

TABELLE 13: Veränderung der Aktionspotentialparameter durch g-Strophanthin und/oder Verapamil in definierten Zeitabschnitten bei verschiedenen Calcium-Ionen-Konzentrationen

Ca ⁺⁺ mval/l	MDP (mV)	AP (mV)	TOP (mV)	AR _{Na} (mV)	V _{max} (V/s)	OS (mV)	APD (ms)	ERP (ms)	DD (mV/s)	DA (mV)	RHYTHMUS- STÖRUNGEN
1,2	2,1 +2,5 n=12	5,9 +3,9 n=12	2,5 +2,4 n=12	7,2 +3,8 n=12	33,3 +36,5 n=10	5,0 +3,5 n=12	44,8 +20,3 n=12	45,5 +21,2 n=10	1,5 +2,0 n=12	0,4 +0,6 n=12	4 von 10 Präp.
3,6	4,4 +1,7 n=17	11,4 +4,9 n=17	7,1 +3,7 n=17	13,7 +6,3 n=17	97,3 +47,0 n=17	6,8 +3,7 n=17	100,4 +45,2 n=17	89,1 +40,0 n=17	22,8 +17,6 n=17	3,7 +2,9 n=17	12 von 14 Präp.
7,2	3,3 +2,3 n=14	6,3 +3,9 n=14	6,0 +3,5 n=14	8,6 +4,8 n=14	52,8 +36,3 n=12	3,2 +2,8 n=14	86,1 +47,5 n=14	76,9 +50,6 n=14	15,5 +11,4 n=14	3,6 +2,3 n=14	2 von 10 Präp.
3,6 + V	1,6 +1,9 n=13	5,6 +3,1 n=13	2,8 +2,6 n=13	6,6 +3,6 n=13	38,3 +38,0 n=11	3,8 +2,5 n=13	15,5 +23,9 n=13	1,9 +20,2 n=13	6,9 +8,8 n=13	1,4 +2,0 n=13	5 von 8 Präp.
3,6 OHNE V	0,2 +0,9 n=9	0,6 +0,6 n=9	0,1 +1,0 n=9	0,6 +0,5 n=9	6,5 +5,0 n=9	0,5 +1,2 n=9	2,5 +6,4 n=9	7,7 +9,7 n=9	0,6 +1,6 n=9	-0,1 +0,6 n=9	
3,6 + V	1,4 +1,4 n=21	2,1 +1,0 n=21	1,6 +1,4 n=21	2,2 +1,1 n=21	13,8 +8,0 n=17	0,6 +1,3 n=21	8,0 +10,7 n=21	2,9 +8,6 n=21	0,1 +0,7 n=21	0,2 +0,6 n=21	

V Verapamil

- o Veränderungen zwischen t = 30 und 75 min
- * Veränderungen zwischen t = -30 und 0 min
- während 105 min Perfusion mit g-Strophanthin (G-Stroph.)

VERAPAMIL -
WIRKUNG*
(OHNE G-STROPH.)

TABELLE

14: Statistischer Vergleich der in einem definierten Zeitabschnitt durch g-Strophanthin und/oder Verapamil bewirkten Veränderungen der Aktionspotentialparameter (Tab.13)

VERGLEICHENE Ca ²⁺ KONZ.(mval/l.)	G-STROPHANTHIN-WIRKUNG°										RHYTHMUS- STÖRUNGEN
	MDP	AP	TOP	AR _{Na}	V _{max}	OS	APD	ERP	DD	DA	
1,2	p <	p <	p <	p <	p <	p <	p <	p <	p <	p <	p <
3,6	0,02	0,002	0,001	0,002	0,001	n.s.	0,001	0,001	0,001	0,001	0,03
1,2	n.s.	n.s.	0,01	n.s.	n.s.	n.s.	0,01	0,05	0,001	0,001	n.s.
7,2	n.s.	n.s.	n.s.	0,02	0,01	0,005	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,005
3,6	n.s.	0,003	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,005	0,001	0,05	n.s.	n.s.
7,2	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	0,001	0,001	0,005	0,02	n.s.
1,2	0,001	0,001	0,001	0,001	0,002	0,02	0,001	0,001	0,005	0,02	n.s.
3,6	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
7,2	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
3,6	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
7,2	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
3,6	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	
7,2	0,01	0,001	0,005	0,001	0,02	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	

V Verapamil

o Veränderungen zwischen t = 30 und 75 min

* Veränderungen zwischen t = -30 und 0 min

e während 105 min Perfusion mit g-Strophanthin (Strop)

7. LITERATURVERZEICHNIS

1. ALKEN R.G., U. FRICKE, W. KLAUS
Divergent influences of Ca^{2+} on the action of several cardiotonic steroids in isolated heart muscle preparations.
Europ. J. Pharmacol. 26:331 1974
2. ALLEN I.C., A. SCHWARTZ
Effects of potassium, temperature and time on ouabain interaction with the cardiac Na^+ , K^+ - ATPase: further evidence supporting an allosteric site.
J. Mol. Cell. Card. 1:39 1970
3. ANDERSON G.J., J.C. BAILEY, CH. FISCH
Nonuniform electrophysiological effects of digitalis on the canine Purkinje system.
J. of Applied Physiology 37:861 1974
4. ANTONI H.
Disturbances of transmembrane ionic fluxes and their role in the pathogenesis of cardiac dysrhythmias. Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism. 5:283 1975
5. ARONSON R.S., I.M. GELLES, B.F. HOFFMAN
Effect of ouabain on the current underlying spontaneous diastolic depolarisation in cardiac Purkinje fibres.
Nature New Biology 245:118 1973
6. BAKER P.F.
Transport and metabolism of Ca^{++} - ions in nerve.
Prog. Biophys. Molec. Biol. 24:179 1972
7. BAKER P.F., H. MEVES, E.B. RIDGWAY
Effects of manganese and other agents on the calcium uptake that follows depolarisation of squid axon.
J. Physiol. 231:511 1973
8. BAKER J.B.E.
The influence of calcium and potassium ions on the toxicity of ouabain.
Brit. J. Pharmacol. 2:259 1947

9. BAYER R., R. HENNEKES, R. KAUFMANN, R. MANNHOLD
Inotropic and electrophysiological actions of
verapamil and D 600 in mammalian myocardium
I: Pattern of inotropic effects of the racemic compounds
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 290:49 1975
10. BAYER R., R. KAUFMANN, R. MANNHOLD
Inotropic and electrophysiological actions of
verapamil and D 600 in mammalian myocardium
II. Pattern of inotropic effects of the optical isomers
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 290:69 1975
11. BAYER R., D. KALUSCHE, R. KAUFMANN, R. MANNHOLD
Inotropic and electrophysiological actions of
verapamil and D 600 in mammalian myocardium
III. Effects of optical isomers on transmembrane
action potentials
Naunyn-Schmiedeberg's Arch. Pharmacol. 290:81 1975
12. BILLIGHEIMER E.
Über Wirkung und Zusammenhänge von Calcium und Digitalis
Klin. Wschr. 8:724 1929
13. BOLTE H.D., E. BECKER
Interaktionen von Lidocain und Kalium.
Messungen von Kenngrößen der Erregung und Erregungs-
leitung an myocardialen Einzelfasern und ihre Bedeutung
für das Verständnis klinischer Beobachtungen am Patienten.
Aus: Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für
Innere Medizin (Editor: J.F. Bergmann) 81:312 1975
14. BOLTE H.D., B. LÜDERITZ
Intra- extrazellulärer Kaliumkonzentrationsgradient
und g-Strophanthinwirkung (Ouabain) beim Kaliummangel.
Klin. Wschr. 47:889 1969
15. BOSTEELS S., E. CARMELIET
The components of the sodium efflux in cardiac
Purkyně fibres.
Pflügers Arch. 336:48 1972
16. BOWER J.O., H.A.K. MENGLE
The additive effect of calcium and digitalis.
J.A.M.A. 106:1151 1936

17. CALDWELL P.C., R.D.KEYNES
The effect of ouabain on the efflux of sodium from
a squid giant axon
J. Physiol. 148:8P 1959
18. CHUNG E.K.
Digitalis intoxication
Excerpta Medica Foundation Amsterdam 1969
19. COHEN J., J.DAUT, D.NOBLE
The influence of extracellular potassium on the
action of ouabain on membrane currents in sheep
Purkinje fibres.
J. Physiol. 249:42 P 1975
20. CRANFIELD P.F., R.S.ARONSON, A.L.WIT
Effect of verapamil on the normal action potential
and on a calcium dependent slow response of canine
cardiac Purkinje fibers.
Cir. Res. 34:204 1974
21. CRANFIELD P.F., A.L.WIT, B.F.HOFFMAN
Genesis of cardiac arrhythmias
Cir. 47:190 1973
22. DAVIS L.D.
Effect of changes in cycle length on diastolic
depolarisation produced by ouabain in canine Purkinje
fibers.
Cir. Res. 32:206 1973
23. DELECE J.
Effect des ion calcium sur la démarcation des fibres
cardiaques après section in vitro.
Helv. Physiol. Acta CR 177
24. DE MELLO W.C., MOTTA E.G., CHAPEAU M.
A study of the healing-over of myocardial cells of
toads.
Cir. Res. 24:475 1969
25. De MELLO W.C.
The healing-over process..
In: Electrical phenomena in heart
Academic Press New York/London 1972

26. DUDEL J.
Die Erregungsbildung im Herzen.
Verh. d. dt. Ges. f. Kreislaufforschung 27:285 1961
27. DUDEL J., W. TRAUTWEIN
Elektrophysiologische Messungen zur Strophanthinwirkung
am Herzmuskel.
Arch. exper. Path. u. Pharmacol. 232:393 1958
28. DUDEL J., K. PEPPER, R. RÜDEL, W. TRAUTWEIN
The effect of Tetrodotoxin on the membrane current
in cardiac muscle (Purkinje fibers).
Pflügers. Arch. 295:213 1967
29. DUNHAM E.T., J.M. GLYNN
Adenosinetriphosphatase activity and the activ
movements of alcali metal ions.
J. Physiol. 156:274 1961
30. EDENS E., J.E. HUBER
Über Digitalisbigeminie.
Dtsch. Arch. klin. Med. 118:476 1916
31. ERDMANN E., H.D. BOLTE, W. SCHÖNER
Cardiac glycoside receptor in potassium depletion.
Rec. Adv. in Studies on Cardiac Struc. Metab.
5:351 1975
32. ERDMANN E., W. SCHÖNER
Ouabain-receptor interactions in (Na^+, K^+) -ATPase
preparations
II. Effect of cations and nucleotides on rate
constants and dissociation constants.
Biochim. Biophys. Acta 330:302 1973
33. ERDMANN E., W. SCHÖNER
Charakterisierung des Strophanthinrezeptors der Zell-
membran aus Herz, Niere und Hirn.
Verh. dtsch. Ges. Kreisl. Forschung 39:174 1973
34. FERRIER G.R., G.K. MOE
Effect of calcium on acetylstrophanthidin induced
transient depolarisations in canine Purkinje tissue.
Cir. Res. 33:508 1973

35. FERRIER G.R., J.H. SAUNDERS, C. MENDEZ
A cellular mechanism for the generation of ventricular arrhythmias by acetylstrophanthidin.
Cir. Res. 32:600 1973
36. FÖRSTER W., M. LINDENAU
Untersuchungen zur Frage einer synergistischen Wirkung von Calcium und Digitaliskörpern.
Klin. Wschr. 41:339 1963
37. FRICKE U., W. KLAUS
Dependence of the cardiac uptake of digitalis glycosides on the extracellular calcium concentration in Guinea pig isolated hearts.
Europ. J. Pharmacol. 30:182 1975
38. GELLES J.M., R.S. ARONSON, B.F. HOFFMAN
Effect of transmembrane potential on the manifestation of ouabain toxicity in sheep cardiac Purkinje fibres.
Cardiovas. Res. 9:600 1975
39. GOLD H., D.J. EDWARDS
The effects of ouabain on the heart in the presence of hypercalcemia.
Am. Heart J. 3:45 1927
40. GOSSWEILER N., K. KIPFER, G. PORETTI, W. RUMMEL
Der Einfluß von Calcium auf den Kaliumaustritt aus Muskelgewebe.
Pflügers Arch. 260:154 1954
41. GOVIER W.C., W.C. HOLLAND
Effects of ouabain on tissue calcium and calcium exchange in pacemaker of turtle heart.
Am. J. Physiol. 207:195 1964
42. GRANT A.O., B.G. KATZUNG
The effects of quinidine and verapamil on electrically induced automaticity in the ventricular myocardium of Guinea pig.
J. Pharmacol. Exper. Ther. 196:407 1976
43. HASHIMOTO K., G.K. MOE
Transient depolarisations induced by acetylstrophanthidin in specialized tissue of dog atrium and ventricle.
Cir. Res. 32:618 1973

44. HAUSWIRTH O., D. NOBEL, R. TSIEN
The mechanism of oscillatory activity at low membrane potentials in cardiac Purkinje fibres.
J. Physiol. 200:255 1969
45. HODITZ H.
Quantitative Untersuchungen am MeerschweinchenVorhof über die Abhängigkeit der Digitoxigeninwirkung von der extrazellulären Calciumkonzentration.
Arch. Exp. Patn. Pharmacol. 244:531 1963
46. HOFFMAN B.F., D.H. SINGER
Effects of digitalis on electrical activity of cardiac fibers.
Prog. in Cardiovas. Dis. 7:226 1964
47. HOFFMAN B.F., E.E. SUCKLING
Effect of heart rate on cardiac membrane potential and the unipolar electrogram.
Am. J. Physiol. 179:123 1954
48. HOGAN P.M., K.W. SPITZER
Manganese and electrogenic phenomena in canine Purkinje fibers.
Cir. Res. 36:377 1975
49. HOGAN P.M., S.M. WITTENBERG, F.J. KLOCKE
Relationship of stimulation frequency to automaticity in the canine Purkinje fiber during ouabain administration.
Cir. Res. 32:377 1973
50. IMANISHI S.
Calcium-sensitive discharges in canine Purkinje fibers.
Jap. J. Physiol. 21:443 1971
51. IRONS G.V., E.S. ORGAIN
Digitalis-induced arrhythmias and their management.
Prog. Cardiovas. Dis. 8:539 1966
52. ISENBERG G.
Is potassium conductance of cardiac Purkinje fibres controlled by $(Ca^{2+})_i$?
Nature 253:273 1975

53. ISENBERG G., W. TRAUTWEIN
The effect of dihydro-ouabain and lithium ions on the outward current in cardiac Purkinje fibers. Evidence for electrogenity of active transport. Pflügers Arch. 350:41 1974
54. JAMES T.N.
Selective experimental chelation of calcium in the sinus node.
J. Mol. Cell. Card. 6:493 1974
55. JENERICH H.P., R.W. GERARD
Membrane potential and threshold of single muscle fibres.
J. Cell. Comp. Physiol. 34:383 1953
56. KASS R.S., R.W. TSIEN
Control of action-potential duration by calcium ions in cardiac Purkinje fibers.
J. Gen. Phys. 67:599 1976
57. KASS R.S., R.W. TSIEN
Multiple effects of calcium antagonists on plateau currents in cardiac Purkinje fibers.
J. Gen. Phys. 66:169 1975
58. KASSEBAUM D.G.
Electrophysiological effects of strophanthidin in the heart.
J. Pharmacol. 140:329 1963
59. KATZUNG B.G.
Effects of extracellular calcium and sodium on depolarisation-induced automacity in Guinea pig papillary muscle.
Cir. Res. 37:118 1975
60. KAUFMANN R., U. THEOPHILE
Automatie-fördernde Denningseffekte an Purkinje-Fäden, Papillarmuskeln und Vorhoftrabekeln von Rhesus Affen. Pflügers Arch. 297:174 1967

61. KAWAMURA K., T.N. JAMES
Comperative ultrastructure of cellular junctions in
working myocardium and the conducting system under
normal and pathologic conditions.
J. Mol. Cell. Card. 3:31 1971
62. KOCH F.E.
Experimentelle Untersuchungen über das herzwirksame
Prinzip der *Convallaria majalis*.
Madaus Jber. 5:9 1952
63. KOHLHARDT M., B. BAUER, H. KRAUSE, A. FLECKENSTEIN
Differentiation of the transmembrane Na and Ca
channels in mammalian cardiac fibres by the use of
specific inhibitors.
Pflügers Arch. 335:309 1972
64. KOHLHARDT M., FIGULLA H.R., O. TRIPATHI
The slow membrane channel as the predominant mediator
of the excitation process in sinoatrial pacemaker cell.
Basic Res. Cardiol. 71:17 1976
65. LANGER G.A.
Effects of digitalis on myocardial ionic exchange.
Cir. 46:180 1972
66. LANGER G.A., S.D. SERENA
Effects of strophanthidin upon contraction and ionic
exchange in rabbit ventricular myocardium: Relation
to control of active state.
J. Mol. Cell. Card. 1:65 1970
67. LEDERER W.J., R.W. TSIEN
Transiend inward current underlying strophanthidin's
enhancement of pacemaker activity in Purkinje fibres.
J. Physiol. 249:40 P 1975
68. LEE J.J., W. WOODBURY, E.S. KIRK, B.G. GRANT,
G.G. RANDOLPH, S.C. SCHEYER
Effect of calcium on membrane potentials of digitaliced
frog ventricle. (Abstract)
Cir. 18:747 1958

69. LEE K.S., W. KLAUS
The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides.
Pharmacol. Rev. 23:193 1971
70. LING G., R.W. GERARD
The normal membrane potential of frog sartorius fibers.
J. Cell. Comp. Physiol. 34:383 1949
71. LOEWI O.
Über den Zusammenhang zwischen Digitalis- und Kalziumwirkung.
Arch. Exp. Path. Pharmacol. 82:131 1917
72. LOWN B., H. BLACK, F.D. MOORE
Digitalis, electrolyts and surgical patient.
Amer. J. Cardiol. 6:309 1960
73. MC.GUIGAN J.A.S., J.B. BASSINGTHWAIGHTE
Possible relationship between $(Ca)_i$ and P_K in ventricular muscle.
Experientia 30/I:680 1974
74. MC. LEAN F.C., A.B. HASTINGS
The state of calcium in the fluids of the body.
J. Biol. Chem. 108:285 1935
75. MEECH R.W.
The sensitivity of Helix Aspera neurones to injected calcium ions..
J. Physiol. 237:259 1974
76. MOORE E.N., J.B. PRESTON, K. MOE
Duration of transmembrane action potentials and functional refractory periods of canine false tendon and ventricular myocardium.
Cir. Res. 17:259 1965
77. MÜLLER P.
Kalium und Digitalistoxizität.
Cardiologia 42:176 1963
78. NALBANDIAN R. M., S. GORDON, R. CAMPBELL
A new quantitative digitalis-tolerance test based upon the synergism of calcium and digitalis.
Amer. J. Med. Sci. 223:503 1957

79. NATORP W., U. SCHULTZ
Über den Einfluß einer Calciumchlorid-Infusion auf
die Toxizität einiger Herzglykoside.
Arzneimittelforsch. 18:1609 1968
80. NAYLER W.G., J. SZETO
Effect of verapamil on contractility, oxygen
utilisation and calcium exchangeability in mammalian
heart muscle.
Cardiovas. Res. 6:120 1972
81. NEUMAN, NEUMAN
The chemical dynamics of bone mineral.
University of Chicago Press 1958
82. NOLA G.T., S. POPE, D.C. HARRISON
Assessment of the synergistic relationship between
serum calcium and digitalis.
Am. Heart. J. 79:499 1970
83. POLIMENI P.I., M. VASSALLE
On the mechanism of ouabain toxicity in Purkinje and
ventricular muscle fibers at rest and during activity.
Amer. J. Cardiol. 27:622 1971
84. REUTER H.
Exchange of calcium ion in the mammalian myocardium.
Cir. Res. 34:599 1974
85. REUTER H., N. SEITZ
The dependence of calcium efflux from cardiac muscle
on temperature and external ion composition.
J. Physiol. 195:451 1968
86. RIECKER G.
Klinische Kardiologie.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1975
87. ROSEN M.R., H. GELBAND, C. MERKER, B.F. HOFFMAN
Mechanisms of digitalis toxicity.
Cir. 47:681 1973
88. ROSEN M.R., H. GELBAND, B.F. HOFFMAN
Correlation between effects of ouabain on the canine
electrocardiogram and transmembrane potentials of
isolated Purkinje fibers.
Cir. 47:65 1973

89. ROSEN M.R., J.P. ILVENTO, H. GELBAND, C. MERKER
Effects of verapamil on electrophysiologic properties
of canine cardiac Purkinje fibers.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 189:414 1974
90. ROSEN M.R., A.C. WIT, B.F. HOFFMAN
Electrophysiology and pharmacology of cardiac arrhythmias.
IV. Cardiac antiarrhythmic and toxic effects of digitalis.
Am. Heart J. 89:391 1975
91. ROSEN M.R., A.C. WIT, B.F. HOFFMAN
Electrophysiology and pharmacology of cardiac arrhythmias.
VI. Cardiac effects of verapamil.
Am. Heart J. 89:665 1975
92. SACHS L.
Statistische Auswertungsmethoden.
Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York 1969
93. SAUNDERS J.H., G.R. FERRIER, G.K. MOE
Conduction block associated with transient depolarisations
induced by acetylcholine in isolated canine
Purkinje fibers.
Circ. Res. 32:610 1973
94. SCHATZMANN H.J.
Herzglycoside als Hemmstoffe für den aktiven Kalium-
und Natriumtransport durch die Erythrocytenmembran.
Helv. Physiol. Pharmacol. Acta 11:346 1953
95. SCHÖLMEIER P.
Die Glykosidintoxikation mit besonderer Berücksichti-
gung der Mineralstoffwechselstörungen.
Regensburg. Jb. ärztl. Fortbild. 12:357 1965
96. SEIFEN E., W. FLÄCKE, M.H. ALPER
Effects of calcium on isolated mammalian heart.
Am. J. Physiol. 207 (3):716 1964
97. SEIFEN E., H. SCHÄFER, J.M. MARSHALL
Effect of calcium on the membrane potentials of single
pacemaker fibres and atrial fibres in isolated
rabbit atria.
Nature 202:1223 1964

98. SINGH B.N., E.M.V. WILLIAMS
A fourth class of anti-dysrhythmic action?
Effect of verapamil on ouabain toxicity, on atrial
and ventricular intracellular potentials and on other
features of cardiac function.
Cardiovas. Res. 6:109 1972
99. SKOU J.C.
The influence of some cations on an adenosine
triphosphate from peripheral nerves.
Biochim. Biophys. Acta 23:394 1957
100. SMITH T.W., E. HABER
Digitalis.
The New England J. of Med. 289:945 1973
101. SZEKELY P., N.A. WYNNE
Effects of calcium chelation on digitalis induced
cardiac arrhythmias.
Brit. Heart J. 25:589 1963
102. TEMENTE J.V., C.D. DAVIS
Effect of calcium concentration on the transmembrane
potentials of Purkinje fibers.
Cir. Res. 20:32 1967
103. TOBIN T., T. AKERA, S.I. BASKIN, T.M. BRODY
Calcium ion and sodium-and potassium- dependent
adenosine triphosphatase: Its mechanism of inhibition
and identification of the E_1 -P intermediate.
Mol. Pharmacol. 9:336 1973
104. TODA N., Th.C. WEST
Modification by sodium and calcium of the cardio-
toxicity induced by ouabain.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 154:239 1966
105. TUTTLE R.S., P.N. WITT, A. FARAH
Therapeutic and toxic effects of ouabain on K^+ -fluxes
in rabbit atria.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 137:24 1962
106. VASSALLE M., J. KARIS, B.F. HOFFMAN
Toxic effects of ouabain on Purkinje fibers and
ventricular muscle fibers.
Am. J. Physiol. 203 (3):433 1962

107. VASSALLE M.
Cardiac pacemaker potentials at different extra- and intracellular K-concentrations.
Am. J. Physiol. 208:770 1965
108. VASSALLE M., E. MUSSO
On the mechanisms underlying digitalis toxicity in cardiac Purkinje fibers.
Recent Advances in Studies on Cardiac Structure and Metabolism 9:355 1976
109. VITEK M., W. TRAUT EIN
Slow inward current and action potential in cardiac Purkinje fibres.
Pflügers Arch. 323:204 1971
110. WAGNER J., W.W. SALZER
Calcium-dependent toxic effects of digoxin in isolated myocardial preparations.
Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie (Reprint) 223 (1):4 1976
111. WEIDMANN S.
Effects of calcium ions and local anaesthetics on electrical properties of Purkinje fibers.
J. Physiol. 129:568 1955
112. WEIDMANN S.
The effect of the cardiac membrane potential on the rapid availability of the sodium carrying system.
J. Physiol. 127:213 1955
113. WERSCHININ N.
Über die systolische und diastolische Herzwirkung des g-Strophanthins.
Arch. Exp. Path. Pharmacol. 63:386 1910
114. WIT A.L., P.F. CRANFIELD
Effect of verapamil on the sinoatrial and atrio-ventricular nodes of the rabbit and the mechanism by which it arrests reentrant atrio ventricular nodal tachycardia.
Cir. Res. 35:413 1974

Herrn Professor Dr. H.-D. Bolte danke ich für die Überlassung
des interessanten Themas und für zahlreiche Anregungen bei der
Durchführung dieser Arbeit.

Lebenslauf

Am 14. September 1951 wurde ich, Siegmар Reinald Fischer, in Plattling geboren und röm. kath. getauft.

Meine Eltern sind Rechtsanwalt Dr. Helmut Fischer und Henriette Fischer, geb. Sollinger.

Seit 1953 lebe ich in München und besuchte hier die Volksschule und das Humanistische Ludwigs-Gymnasium, wo ich 1971 mein Reifezeugnis erhielt.

Im WS 1971/72 begann ich mit dem Medizinstudium an der Ludwig-Maximilian-Universität in München, an der ich 1972 die naturwissenschaftliche und 1973 die ärztliche Vorprüfung ablegte.

1974 bestand ich das erste, 1976 das zweite und am 27.10.1977 das dritte medizinische Staatsexamen.

Meine Approbation als Arzt erhielt ich am 5.12.1977.

Seit dem 1.1.1978 bin ich am Max-Planck-Institut für Biochemie in Martinsried tätig, um dort Methoden der Bindegewebsforschung zu erlernen. Hierzu wurde mir ein Ausbildungsstipendium der Deutschen Forschungsgemeinschaft bewilligt.

